

Univerzita Karlova
Pedagogická fakulta

Katedra biologie a environmentálních studií

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Aktivita bezobratlých v zimě a ověření vybraných metod jejich odchytu v
zimním období

The Activity of Invertebrates in Winter and the Verification of the Selected
Invertebrates Capturing Methods During the Winter Season

Jan Babůrek

Vedoucí práce: Mgr. Dagmar Říhová

Studijní program: Učitelství pro střední školy

Studijní obor: Učitelství všeobecně vzdělávacích předmětů pro základní školy a střední
školy biologie — výchova ke zdraví

2017

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Aktivita bezobratlých v zimě a ověření vybraných metod jejich odchytu v zimním období vypracoval pod vedením vedoucího práce samostatně za použití v práci uvedených pramenů a literatury. Dále prohlašuji, že tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Praze dne 21. 4. 2017

.....

podpis

Mé poděkování patří zejména Mgr. Dagmar Říhové za ochotu, trpělivost a čas, který mi během vedení diplomové práce věnovala. Děkuji také Mgr. Věře Hroudové z Botanické zahrady PřF UK za možnost umístění pastí v botanické zahradě a Ing. Michaele Grasserové, MSc. za pomoc se zpracováním dat a celkovou podporu.

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá přežitím a aktivitou bezobratlých živočichů v průběhu zimy a metodami jejich odchytu. Rešeršní část práce nejprve představuje principy chladové odolnosti, strategie přežití zimy a aktivitu ve sněžném prostředí, dále pak odchytové metody bezobratlých. Praktická část práce je zaměřena na ověření vybraných metod odchytu během zimy. Výsledky shrnují rozdíly v diverzitě a kvantitě odlovených živočichů a přinášejí přehled a charakteristiky vybraných odchycených taxonů. Na základě výsledků jsou pak představeny návrhy exkurze za sněžnou faunou a praktická cvičení zaměřená na odchyt bezobratlých během zimy.

KLÍČOVÁ SLOVA

chladová odolnost, přežití v zimě, zimní aktivita, sněžná fauna, bezobratlí živočichové, odchytové metody, zemní pasti

ABSTRACT

This diploma thesis is focused on invertebrates' survival and activity during winter; and on methods of their capture. The first part of the theoretical section describes principles of cold hardiness, strategies of winter survival and activity in snow environment. Furthermore, different methods of invertebrates capturing are presented. The practical part of the thesis is focused on the verification of selected invertebrates capturing methods during winter. The results summarize the differences in the diversity and quantity of animals caught; and provide an overview and characteristics of selected captured taxa. Suggestions for a snow fauna excursion and a practical exercise focused on capturing invertebrates during winter are proposed based on the results of the study.

KEYWORDS

cold hardiness, winter survival, winter activity, snow fauna, invertebrate animals, catching methods, pitfall traps

Obsah

1 Úvod.....	8
2 Termoregulace bezobratlých živočichů a nízké teploty.....	10
3 Chladová odolnost.....	12
3.1 Krystalizace a podchlazení (<i>supercooling</i>) vodného roztoku.....	13
4 Strategie přežití nízkých teplot.....	15
4.1 Netolerance chladu.....	17
4.2 Netolerance zmrznutí.....	19
4.3 Tolerance zmrznutí.....	20
4.3.1 Poškození způsobená krystalizací.....	22
5 Fyziologické mechanismy chladové odolnosti.....	24
5.1 Kryoprotektanty.....	24
5.2 Nukleátory.....	25
5.3 Protimrazové proteiny.....	26
5.4 Hospodaření s vodou a ledem.....	27
5.4.1 Kryoprotektivní dehydratace.....	27
5.4.2 Vitifikace.....	28
5.5 Diapauza.....	29
6 Zimní aktivita bezobratlých živočichů.....	31
6.1 Prostředí sněhu.....	31
6.2 Systematický přehled sněžné fauny.....	33
6.3 Pavoukovci.....	33
6.3.1 Roztoči (Acari).....	34
6.3.2 Pavouci (Araneae).....	34
6.4 Chvostokoci.....	35
6.5 Hmyz.....	36
6.5.1 Brouci (Coleoptera).....	36
6.5.2 Srpice (Mecoptera).....	37
6.5.3 Dvoukřídli (Diptera).....	38
6.5.4 Pošvatky (Plecoptera).....	42
7 Přehled metod a pomůcek k odchytu bezobratlých živočichů.....	43
7.1 Základní vybavení pro individuální sběr.....	43
7.1.1 Entomologická pinzeta.....	44
7.1.2 Exhaustor.....	44
7.2 Odchyt ve vzduchu a na vegetaci.....	44
7.2.1 Motýlářská síť.....	44
7.2.2 Smýkáč síť.....	45

7.2.3 Sklepávadlo.....	45
7.3 Sběr a extrakce půdních živočichů.....	46
7.3.1 Prosívadlo.....	46
7.3.2 Xeroeklektory.....	47
7.3.3 Fotoeklektory.....	47
7.3.4 Extraktory podle Berleseho a Tullgrena.....	47
7.4 Odchyt pomocí pastí.....	48
7.4.1 Zemní pasti.....	49
7.4.2 Moerickeho a jiné barevné misky.....	49
7.4.3 Intercepční (narázové) pasti.....	50
7.4.4 Malaiseho pasti.....	51
7.4.5 Světelné pasti.....	51
7.4.6 Lepové pasti.....	52
7.4.7 Metoda umělého útočiště.....	53
8 Metodika.....	55
8.1 Přehled testovaných metod.....	55
8.1.1 Zemní pasti.....	55
8.1.2 Odběr hrabanky a extrakce v přístroji podle Berlese a Tullgrena.....	56
8.1.3 Sklepávání.....	56
8.1.4 Metoda umělého útočiště – kmenové pásy.....	56
8.1.5 Metoda umělého útočiště – kartonové destičky.....	56
8.2 Volba místa a času.....	57
8.2.1 Přehled lokalit.....	57
8.3 Určování a zpracování vzorků.....	58
9 Výsledky.....	59
9.1 Změny v počtu odchycených jedinců v průběhu zimy.....	59
9.2 Taxonomická diverzita u jednotlivých odchytových metod.....	63
9.3 Přehled a charakteristika vybraných odlovených zástupců.....	64
10 Diskuse.....	70
11 Návrh exkurze a praktického cvičení.....	73
11.1 Exkurze za sněžnou faunou.....	73
11.2 Praktické cvičení „Kdo v zimě nespí?“.....	75
12 Závěr.....	79
13 Seznam použitých pojmů.....	81
14 Seznam použitých informačních zdrojů.....	82

1 Úvod

Zoologie bezobratlých živočichů je tradičním tématem výuky přírodopisu a biologie na základních i středních školách. Stejně však, jako jiná témata daných vzdělávacích oborů, může narážet na specifické komplikace dané cyklickými změnami v přírodě – ročními obdobími. Zatímco některé praktické metody výuky lze provádět i ve třídě, vysoce hodnotné pozorování živých přírodnin v přirozeném prostředí či získávání a zpracování čerstvých přírodnin je vázáno na prostředí za branami školy. Při projektování výuky není možné vždy přizpůsobit rozvržení témat tak, aby odpovídala optimálnímu období pro praktické poznávání přírody. Jaké má tedy pedagog možnosti, případně-li výuka zoologie bezobratlých na období zimních měsíců? Chceme-li se zaměřit na pozorování a odchyt živých jedinců, lze využít živočichy synantropní. Nicméně i venkovní prostředí může v zimě poskytnout řadu materiálu a podnětů pro využití praktických metod vyučování.

Pro většinu žáků, a pravděpodobně také pedagogů, se může zima jevit k pozorování a sběru bezobratlých živočichů jako zcela nevhodná. Řada z nich si možná ani není vědoma, že během zimních měsíců lze venku pozorovat i aktivně se pohybující členovce. Právě tato nevědomost však může otevírat prostor pro poznávání nejen morfologie a fyziologie živočichů, ale i jejich chování a ekologie. Neboť i v době, kdy je krajina pokryta sněhem, lze pozorovat pohyb, přijímání potravy i rozmnožování těch, kteří v rámci evolučního vývoje našli v relativně nehostinných podmínkách řadu výhod.

První část práce bude literárním přehledem, pojednávajícím o způsobech přežití bezobratlé fauny v chladném prostředí – chladové odolnosti, fyziologických mechanismech jejího řízení a strategiích využívaných k překonávání nízkých teplot. Následovat bude přehled živočichů aktivních v bezprostředním kontaktu se sněhem. Závěr teoretické části tvoří přehled metod a nástrojů uplatňovaných při odchytu a sběru bezobratlých živočichů.

Existuje řada metod a nástrojů, jak pozorovat či získávat a dále zpracovávat zástupce bezobratlých živočichů. Ne všechny jsou však vhodné pro účely výuky a především pak pro použití v zimním období. Stěžejním cílem praktické části předložené diplomové práce bude ověření možností použití vybraných odchytových metod v zimě, a to v běžně

dostupném městském prostředí. Na základě výsledků pak bude vytvořen přehled živočichů, kteří byly s využitím daných metod odchyceni a návrh praktického cvičení. V závěru bude připojen také návrh exkurze za sněžnou faunou, vycházející z literárního přehledu.

Cíly této diplomové práce jsou:

- vytvořit literární přehled prostředků chladové odolnosti a strategií přežívání zimního období bezobratlých živočichů
- sepsat systematický přehled aktivně žijících bezobratlých ve sněžném prostředí
- sestavit literární přehled metod odchytu bezobratlých živočichů
- prakticky ověřit vybrané odchytové metody v průběhu zimy a následně vytvořit přehled odchycených taxonů
- navrhnout exkurzi za sněžnou faunou a praktické cvičení zaměřené na odchyt bezobratlých během zimy

2 Termoregulace bezobratlých živočichů a nízké teploty

Tělesná teplota bezobratlých živočichů je závislá na okolním prostředí – hovoříme o takzvané ektotermii. Naproti tomu živočichové endotermní (savci a ptáci) udržují tělesnou teplotu v určitém malém teplotním rozmezí, což jim umožňuje výrazně variabilnější aktivitu v chladném prostředí, ovšem za cenu vysoké spotřeby energie. Bezobratlí živočichové zpravidla nemají prostředky na udržení tělesné teploty, mezi které patří zejména dostatečná velikost těla a míra izolačních vrstev bránících ztrátám tepla (Marchand 1996). Ve třídě hmyzu však můžeme najít řadu výjimek, které se diverzitě teplot na Zemi přizpůsobily schopností částečné termoregulace. Zvýšení tělesné teploty je spjata především s letem poháněným svalovou činností, který je jedním z metabolicky nejaktivnějších známých procesů. Pro let je nezbytná dostatečná teplota svalů a zároveň jejich pohyb sám generuje vnitřní teplo. Řada zástupců létavého hmyzu disponuje mechanismy, které umožňují zvýšení tělesné teploty i před samotným letem (Heinrich 1995). Zajištění aktivity v nízkých teplotách se však zdaleka neomezuje pouze na činnost letového aparátu. Naopak se jedná spíše o výjimku – řada druhů vyskytujících se v opravdu chladném prostředí schopnost letu ztrácí, neboť by byl samotný let energeticky neefektivní.

Specifické strategie udržení tělesné teploty mohou vykazovat sociálně žijící druhy. Například některé včely udržují svou fyziologickou a behaviorální aktivitou teplotu úlu na 35 °C (Lee 1989; Lee a Denlinger 1991). Členovci aktivní v zimním prostředí často využívají ke zvýšení tělesné teploty během teplých dnů sluneční záření. Před chladným a větrným vnějším prostředím mohou naopak hledat ochranu pod sněhovou pokrývkou. Vyhledávání úkrytu není typické jen pro chladné prostředí. Podobně se pod vrstvou písku chrání pouštní živočichové před horkem (Daly 1998). Některé druhy, např. monarcha stěhovavý (*Danaus plexippus*), každoročně před zimou migrují tisíce kilometrů do teplejších oblastí. Řada druhů přečkávajících zimu vyhledává úkryt před okolními teplotami v opadance či v hlubších vrstvách půdy (tzv. horizontální migrace). Menší ochranu pak poskytuje například úkryt pod kůrou stromů či přímo na větvích nebo

kamenech (Lee 1989; Sømme 1999). Významným útočištěm, na kterém je závislá aktivita i přežití řady bezobratlých, je sněhová pokrývka (Pauli et al. 2013; Petty et al. 2015)

Zatímco tedy savci a ptáci udržují tělesnou teplotu relativně stálou, bezobratlí živočichové mohou být značně variabilní jak v teplotě, která je optimální pro jejich přežití, tak ve schopnosti termoregulace.

Nízké teploty, neboli chlad, jsou relativním pojmem a pro různé zástupce živočichů mohou mít zcela rozdílné hodnoty. Salt (1961) definuje chlad jako teploty příliš nízké na to, aby v nich mohl probíhat normální vývoj hmyzu. Pokud při této teplotě nedochází ke krystalizaci uvnitř těla, používá se pro její označení termín „*chilling*“. Řada zástupců hmyzu totiž může zastavit svůj vývoj nebo i uhynout při teplotách výrazně vyšších než je 0 °C. Jedná se zejména o organismy, které se s nízkými teplotami běžně nesetkávají – např. hmyz tropických oblastí nebo domácí škůdci (Salt 1961; Denlinger a Lee 2010). Velká část temperátních a tropických členovců může v teplotách mezi 0 °C a 10 °C upadnout do takzvaného chladového koma (*chill-coma*), kdy dochází ke ztrátě lokomoce vlivem porušení funkce nervosvalového aparátu. Naopak pro některé alpinské a polární druhy nepřestávají teploty pod bodem mrazu překážku v aktivním pohybu (Lee a Denlinger 1991; Denlinger a Lee 2010). Krajním příkladem může být pakomár rodu *Diamesa*, jehož pohyb byl zaznamenán na himalájském ledovci ve výšce přes 5000 m n. m. a při teplotě -16 °C (Koshima 1985 in Gílka et al. 2013).

Přes řadu adaptací ve formě migrace, dormance či termoregulace se mnoho druhů mírného a polárního pásu není schopno nízkým teplotám vyhnout. Pro jejich přežití jsou nezbytná přizpůsobení, jejichž soubor tvoří takzvanou chladovou odolnost, které bude věnována následující kapitola.

3 Chladová odolnost

Chladová odolnost (*cold-hardiness*, *cold-tolerance*) představuje schopnost organismu přežít krátkodobé či dlouhodobé působení nízkých teplot (Lee 1989). Míra chladové odolnosti se u většiny druhů mírného až polárního pásma mění sezónně a je závislá na řadě faktorů, např. na vývojovém stádiu, ročním období, stupni aklimatizace, nutričním stavu, genetických předpokladech a délce vystavení teplotě (Lee 1989; Lee a Denlinger 1991). Proces nabývání chladové odolnosti může mít podobu sezónní (*seasonal cold-hardening*) nebo rychlou, vázanou na aktuální pokles teplot (*rapid cold-hardening*).

Schopnost přežití nízkých teplot je dána komplexem mechanismů, které mohou být u daného organismu v různé míře zastoupeny. Na jedné straně jsou to fyziologické adaptace chladové odolnosti (např. akumulace kryoprotektantů, odstranění nukleátorů, syntéza protimrazových proteinů, desikace, atd.), na straně druhé to jsou adaptace ekologické (volba habitatu, modifikace habitatu – např. tvorba kokonů) a diapauza (Danks 1996, 2004; Overgaard a MacMillan 2016). Fyziologickým mechanismům chladové odolnosti bude věnována samostatná kapitola.

Sezónní (též zimní) nabývání chladové odolnosti (*seasonal cold-hardening*) je vázáno na přežití zimního období. Vyznačuje se zejména délkou trvání, která se pohybuje v řádu alespoň dnů až týdnů. Do sezónního nabývání chladové odolnosti mohou být zařazeny dva mechanismy – aklimatizace a fotoperiodická diapauza (Teets a Denlinger 2013). Vztah mezi chladovou odolností a diapauzou může být ovšem různý. V některých případech je diapauza nezbytnou podmínkou pro vznik chladové odolnosti, jindy zřejmě není vázána na přežití nízkých teplot vůbec (Denlinger 1991; Hodková a Hodek 1997, 2004). Aklimatizace je definována jako zvýšení chladové odolnosti po delším působení (dny až týdny) nízkých, ale subletálních teplot (Teets a Denlinger 2013).

Rychlé nabývání chladové odolnosti (*rapid cold-hardening*) je reakcí na náhlý pokles teplot a může se vyskytovat i u nepřezimujících stádií. Na rozdíl od sezónního poskytuje ochranu zejména proti chladovému šoku, tedy poškozeními, která vznikají bez zmrznutí tělních tekutin (Lee 1989; Teets a Denlinger 2013).

3.1 Krystalizace a podchlazení (*supercooling*) vodného roztoku

Lee (1989) přirovnává tělo členovců k nádržce naplněné vodným roztokem, pro porozumění působení nízkých teplot na organismy je tedy vhodné nejprve vysvětlit některé fyzikální jevy, týkající se vody a vodného roztoku.

Molekuly vody mají tendence tvořit shluky díky elektrostatickému náboji svých polárních částí. Snižování teploty má za následek zpomalování pohybu molekul, na významu tak nabývají přitažlivé síly a zvyšuje se pravděpodobnost, že dojde ke spojení. Nejprve se molekuly vody spojují v krystalizační jádra (nukleační centra), na která se navazují další molekuly a vzniká led. Dochází-li ke krystalizaci čisté vody spontánně, hovoříme o homogenní krystalizaci. Krystalizace ovšem může být vyvolána také dříve, za vyšších teplot, a to cizorodými částicemi – nukleátory (nukleačními agenty). Nukleátor vytváří „zárodečný krystal“, na který se navazují další molekuly vody. Krystalizace indukovaná cizorodými částicemi se nazývá krystalizace heterogenní (Salt 1961; Zachariassen a Kristiansen 2000).

Bod tání (*melting point, MP*) nebo bod tuhnutí (*freezing point, FP*) roztoku označuje teplotu, při které během pomalého ohřívání dojde k rozpuštění posledního ledového krystalu. Dosažení tohoto bodu během ochlazování ovšem obvykle neznamena krystalizaci tekutiny. Z tohoto důvodu je označení bod tuhnutí poněkud zavádějící a je vhodnější používání termínu bod tání nebo rovnovážný bod tuhnutí (*equilibrium freezing point*) (Zachariassen a Kristiansen 2000). Při dalším ochlazování roztoku pod bod tání dochází k takzvanému podchlazování (*supercooling*). V laboratorních podmínkách může být vzorek čisté vody o velmi malém objemu podchlazen až na teplotu $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Salt 1961; Zachariassen a Kristiansen 2000; Denlinger a Lee 2010). Nicméně tělní tekutiny některých zástupců hmyzu mohou být díky obsahu rozpuštěných látek podchlazeny až na teplotu $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Miller 1982). Voda může být podchlazována až do bodu, kdy dojde ke spontánní, homogenní krystalizaci. Tento bod je označován jako bod podchlazení (*supercooling point, SCP*) nebo teplota krystalizace (T_c). Rozmezí mezi bodem tání (MP) a bodem podchlazení

(SCP) je nazýváno kapacita podchlazení (*supercooling capacity*). Kapacita podchlazení je přímo závislá na objemu roztoku – čím je objem nižší, tím vyšší bude i schopnost podchlazení (Zachariassen a Kristiansen 2000; Denlinger a Lee 2010). Ve chvíli, kdy je dosaženo SCP, dochází k uvolnění tzv. tepla krystalizace. Tento náhlý nárůst teploty umožňuje spolehlivé měření jeho hodnoty (Lee 1989).

Dalším faktorem, který umožňuje další podchlazování tělních tekutin, je přítomnost rozpuštěných látek – např. iontů, aminokyselin, proteinů a dalších tzv. kryoprotektantů. Čím je vyšší koncentrace rozpuštěných látek (osmolalita), tím je nižší teplota, při které dojde ke krystalizaci. Bod tání roztoku je koligativně snižován přibližně o 1,86 °C na 1 osmol (Zachariassen a Kristiansen 2000; Denlinger a Lee 2010). Vyjma koligativního snížení teploty tání mohou krystalizaci inhibovat také jednotlivé obsažené látky, např. protimrazové proteiny.

4 Strategie přežití nízkých teplot

Chladová odolnost ektotermních živočichů je značně variabilní, přesto může být na základě určitých kritérií kategorizována. Tradiční rozdělení, které je do určité míry používáno i dnes, člení organismy do dvou kategorií. První jsou ty, které se vyhýbají zmrznutí pomocí snížení bodu podchlazení – krystalizace uvnitř těla pro ně znamená úhyn. Druhá skupina organismů volí strategii jinou – naopak zmrznutí tělesných tekutin toleruje a pomocí různých mechanismů se snaží zajistit, aby byla krystalizace bezpečná. Autorem tohoto rozdělení, které se stalo paradigmatem výzkumu chladové odolnosti, je Salt (1961). Plné označení strategií se může u různých autorů lišit, původní však zní:

- a) vyhýbání se zmrznutí pomocí podchlazení (*avoidance of freezing by supercooling*)
- b) tolerance zmrznutí (*freezing tolerance*)

Pro strategii vyhýbání se zmrznutí jsou používána také synonymní označení „netolerance zmrznutí“ (*freezing intolerance*) nebo „podléhání zmrznutí“ (*freezing susceptibility*).

Zejména v průběhu devadesátých let 20. století se začala objevovat kritika Saltova dichotomického rozdělení (Bale 1996; Sinclair 1999; Overgaard a MacMillan 2016). Zásadním problémem rozdělení na organismy netolerující a tolerující zmrznutí je, že vylučuje organismy, které hynou při teplotách nad bodem podchlazení. Tolerance a vyhýbání se zmrznutí jsou strategie živočichů vyskytujících se v oblastech s extrémními zimními teplotami. Nejvyšší diverzita členovců je ovšem v teplých oblastech, kde může také docházet k úhynu organismů způsobeném nízkými teplotami bez přítomnosti mrazu (tedy *chillingem*) (Bale 1996; Overgaard a MacMillan 2016). Bale (1996) představil návrh nového rozdělení chladové odolnosti, založený na okolnostech, kdy dochází k úhynu organismu:

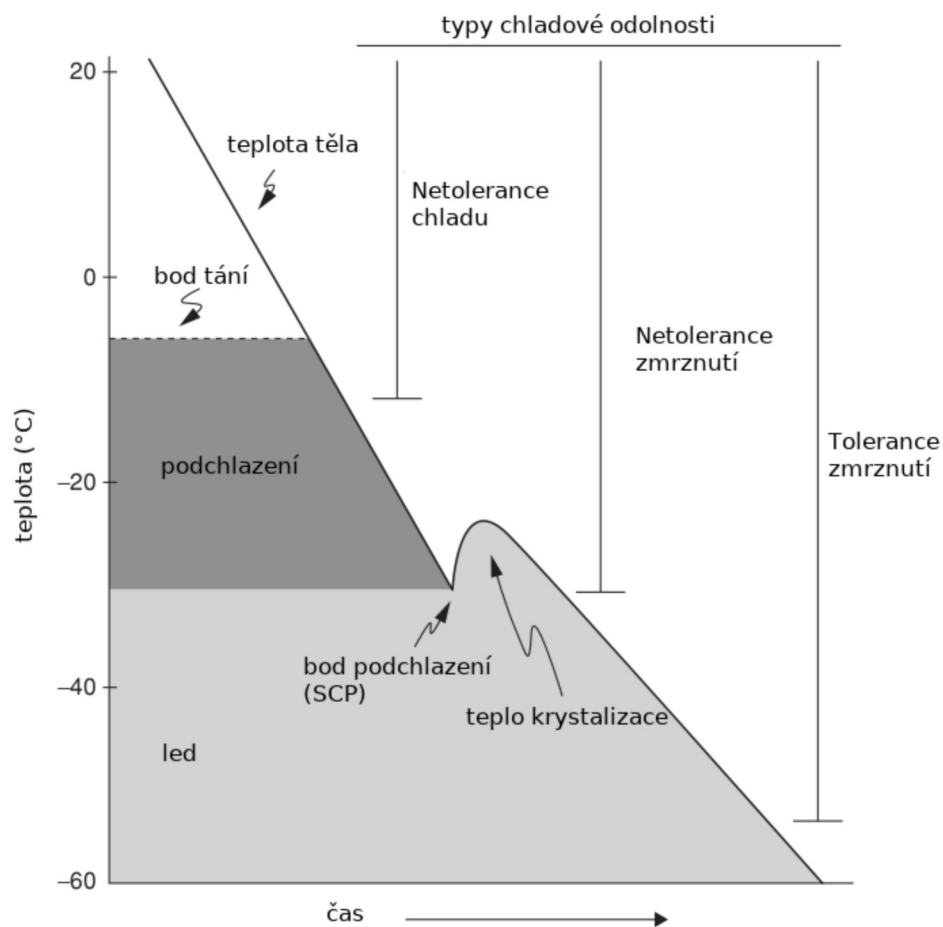
- tolerance zmrznutí (*freeze tolerance*)
- vyhýbání se zmrznutí (*freeze avoidance*)

- tolerance chladu (*chill tolerance*) – úhyn nastává po dlouhodobějším působení chladu; přežití záporných teplot je možné, vždy však nastává úhyn před dosažením SCP
- podléhání chladu (*chill susceptibility*) – úhyn po krátkém působení kladných až mírně záporných teplot
- oportunistické přežití (*opportunistic survival*) – úhyn přichází, pokud nelze udržet normální metabolismus a organismus není schopen vstoupit do dormantního stavu

Tradiční dichotomické rozdělení tedy Bale doplňuje o další kategorie, pokrývající také zástupce teplejších oblastí. Tolerance zmrznutí je zde prezentována jako vrchol chladové odolnosti, což ovšem nemusí být zcela výstižné. Sinclair (1999) podrobněji rozebral strategii, resp. strategie tolerance zmrznutí a rozdělil ji do čtyř dalších kategorií. Tolerance zmrznutí se teplotně do značné míry překrývá s vyhýbáním se zmrznutí, jedná se tedy strategie paralelní (Sinclair 1999). Sinclairova klasifikace bude podrobněji rozebrána v podkapitole věnující se toleranci zmrznutí.

Dalšími strategiemi, i když zastoupenými jen okrajově u hmyzu extrémních polárních oblastí, jsou kryoprotektivní desikace a vitifikace (Storey a Storey 2014). Podrobněji budou tyto kategorie rozebrány v kapitole věnující se mechanismům chladové odolnosti.

V následujícím textu budou podrobněji rozebrány tři kategorie chladové odolnosti. Toto rozdělení používá například Denlinger a Lee (2010). K tradičním strategiím přidává ještě „netoleranci chladu“, která pokrývá také organismy teplejších oblastí. Schematický pohled na toto rozdělení představuje *Obrázek 1*.



Obrázek 1: Přehled strategií chladové odolnosti ektotermních živočichů (převzato a upraveno podle Denlinger a Lee 2010)

4.1 Netolerance chladu

Druhy netolerující chlad (*chilling intolerant*, *chill susceptible*) podléhají teplotám vyšším než je bod podchlazení tekutin uvnitř jejich těla. Neboli, jejich spodní letální teplota (*low lethal temperature*, *LLT*) je vždy vyšší než teplota, při které dojde ke krystalizaci uvnitř těla (Denlinger a Lee 2010; Overgaard a MacMillan 2016). Některé druhy mohou přežívat i teploty pod bodem mrazu a jsou tedy schopny podchlazení, u jiných dochází ke ztrátě homeostázy, chladovým poškozením nebo i úhynu při teplotách vyšších než 0 °C. Z tohoto důvodu je netolerance chladu někdy rozčleňována na více stupňů, od podléhání chladu k toleranci chladu (druhy do určité míry schopné podchlazení) (Bale 1996; Overgaard a MacMillan 2016). Mezi organismy netolerující chlad patří zejména druhy tropických

oblastí. Vzhledem k jejich množství se jedná o významnou kategorii (Overgaard a MacMillan 2016).

Poškození způsobená chladem bez přítomnosti krystalizace (*chilling*) lze rozdělit na poškození přímá a nepřímá (Denlinger a Lee 2010).

Původcem přímých poškození, neboli chladového šoku, je krátké (v řádu minut až hodin), ale intenzivní působení nízkých teplot bez tvorby ledových krystalů. Podstatou poškození je fázový přechod buněčné membrány ze stavu podobného tekutým krystalům (fluidní mozaika) v tuhý gel a oddělení membránových proteinů. Membrána tak přichází o schopnost selektivní propustnosti (Denlinger a Lee 2010; Overgaard a MacMillan 2016).

Nepřímá poškození vznikají delším působením chladu v řádu dnů až týdnů. Teploty při kterých dochází k nepřímým poškozením se mohou značně lišit, od několika stupňů pod nulou po 10–15 °C u tropických druhů. Nepřímá poškození jsou také spjata s porušením funkce buněčných membrán. Vlivem nízkých teplot je narušena funkce Na^+/K^+ ATPázy, udržující tok iontů sodíku z buňky do intercelulárních prostor a zajišťující elektrochemický potenciál membrány. Ztráta elektrochemického potenciálu znamená narušení funkce svalového a nervového aparátu, postižený jedinec přichází o schopnost lokomoce a nastává u něj chladové koma (Košťál et al. 2004; Denlinger a Lee 2010; Overgaard a MacMillan 2016). Nepřímá poškození nemusejí být trvalá ani letální. Krátkým oteplením během delších chladných období nebo během dne může dojít k obnovení iontového gradientu, obnovení energetických zásob a odstranění toxických metabolitů (Denlinger a Lee 2010). Čas, který uplyne mezi zvýšením teploty a navrácením schopnosti pohybu, je používán jako jeden z faktorů určujících míru chladové odolnosti druhů netolerujících chlad (Košťál et al. 2004; Overgaard a MacMillan 2016).

Poškození způsobená chladem bez přítomnosti krystalizace nejsou jevem vyskytujícím se pouze u členovců, ale i u dalších organismů. Výzkum hmyzu, který je schopen těmto poškozením přirozeně odolávat, by tak mohl vést například k rozvoji metod uchovávání a transportu rostlin v chladu nebo kryoprezervace lidských tkání a orgánů (Lee 1989; Denlinger a Lee 2010).

4.2 Netolerance zmrznutí

Druhům netolerujícím zmrznutí neboli vyhýbajícím se zmrznutí (*freezing intolerant*, *freezing avoidant*) nehrozí poškození v důsledku chladového šoku. Spodní letální teplota (LLT) je u nich rovna bodu podchlazení (SCP). Mohou tedy přežít i teploty hluboko pod bodem mrazu, dokud ovšem nedojde uvnitř těla ke krystalizaci (Denlinger a Lee 2010). Většinu zástupců hmyzu a dalších terestrických členovců (např. pavouků a roztočů), která je v přírodě někdy vystavena teplotám pod bodem mrazu, lze zařadit mezi organismy netolerující zmrznutí (Voituron et al. 2002; Denlinger a Lee 2010).

Strategie vyhýbání se zmrznutí je založena na sezónním zvyšování chladové odolnosti (*seasonal cold-hardening*), které nastává na počátku zimy a může trvat několik dnů až týdnů. V rámci postupného snižování teplot dochází k procesům důležitým pro zvýšení schopnosti podchlazení. Mezi ty patří zejména:

- akumulace kryoprotektantů s nízkou molekulární hmotností, koligativně snižujících bod tuhnutí a podchlazení
- produkce protimrazových proteinů (*anti-freeze proteins*, *AFP*), inhibujících růst zárodečných krystalů a stabilizujících stav podchlazení
- odstranění potenciálních nukleátorů, nacházejících se zejména v trávicím traktu
- změna složení buněčných membrán pro jejich stabilizaci a udržení funkcí (Bale 1996; Duman 2001; Margesin et al. 2006; Denlinger a Lee 2010; Teets a Denlinger 2013).

Vyjma výše uvedených mechanismů vyhýbání se zmrznutí mohou organismy využívat také dalších faktorů, jako je voděodolná kutikula nebo ochranný hedvábný kokon (Storey a Storey 1996). Kutikula poskytuje ochranu před inokulativním zmrznutím, při kterém je krystalizace spuštěna kontaktem s ledem z vnějšího prostředí (Duman 2001).

Hranice mezi vyhýbáním se zmrznutí a tolerancí zmrznutí není vždy zcela jednoznačná. Některé organismy (např. žížaly) mohou přežít i krystalizaci uvnitř těla, musí ovšem dojít

ke zvýšení teploty dříve, než dojde k úplnému promrznutí a vyrovnání teploty s prostředím (Holmstrup 2003). Sinclair (1999) označuje tuto kategorii jako „částečnou toleranci zmrznutí“.

Přestože je vyhýbání se zmrznutí rozšířenější strategií přežívání zimy než jeho tolerance, je energeticky náročnější. Umožňuje ovšem vyhnout se některým rizikům, která s sebou přináší krystalizace uvnitř těla. Mezi ně patří poškození tkání ledovými krystaly, anoxie, ischemický stres (nedostatečná cirkulace hemolymfy při promrznutí) a akumulace metabolitů (Voituron et al. 2002). Vyhýbání se zmrznutí umožňuje některým zástupcům zimní aktivitu. Optimálním prostředím je v takovém případě prostor pod sněhovou pokrývkou, kde jsou teploty relativně stabilní a pouze mírně pod bodem mrazu. Pokud je vhodné počasí, mohou vylézat na povrch a aktivně se na něm pohybovat (Storey a Storey 1996).

4.3 Tolerance zmrznutí

U organismů tolerujících zmrznutí (*freezing tolerant*) se spodní letální teplota (LLT) nachází pod bodem podchlazení (SCP). Neznamená to ovšem, že by krystalizace uvnitř těla byla zcela bez omezení. Zejména je nezbytné omezení krystalizace pouze na extracelulární prostory, cytoplasma musí zůstat téměř vždy v tekutém stavu. Toho je docíleno pomocí několika mechanismů. Na jedné straně je to využití nespecifických nukleátorů (*ice nucleating agents, INAs*) nebo nukleačních proteinů (*ice-nucleating proteins, INPs; protein ice nucleators, PINs*) syntetizovaných na konci podzimu a začátku zimy. Ty jsou akumulovány zejména v hemolymfě, ale i jiných částech těla, a umožňují zmrznutí již při relativně vysoké teplotě (obvykle -5 °C až -10 °C) (Bale 1996). Na straně druhé jsou to kryoprotektanty s nízkou molekulární hmotností, které jsou soustředěny v intracelulárních prostorech, kde zamezují zmrznutí a dehydrataci buněk. Kryoprotektanty také zajišťují schopnost podchlazení, než jsou plně připraveny nukleátory a je možné zajistit bezpečné zmrznutí (Bale 1996; Margesin et al. 2006).

Pokud je zajištěno zmrznutí extracelulárních prostor a zachování tekutého stavu cytoplasmy, stále zůstává riziko rekrystalizace, která může vést k poškození tkání. Tomu

brání protimrazové proteiny působící jako inhibitory krystalizace (*recrystallization inhibitors, RIs*) (Margesin et al. 2006).

Mezi mechanismy zajišťující toleranci zmrznutí tedy patří:

- postupná krystalizace při relativně vysokých teplotách pod 0 °C
- zajištění krystalizace pouze v extracelulárních prostorech pomocí INAs a INPs
- zamezení dalšího růstu ledu a koncentrace rozpuštěných látek
- ochrana buněčných membrán před poškozením při buněčné dehydrataci (Marchand 1996).

Pro většinu druhů znamená intracelulární krystalizace úhyn, nicméně ne pro všechny. Mezi tyto výjimky patří například hlístice *Panagrolaimus davidi*, vyskytující se na Antarktidě a přežívající teploty až -82 °C a zmrznutí 82 % obsahu vody v těle (pro většinu druhů je hraniční hodnotou 65 %) (Storey a Storey 1996; Smith et al. 2008).

Někdy je na toleranci zmrznutí nahlíženo jako na vrcholnou strategii chladové odolnosti, zajišťující přežití těch nejextrémnějších podmínek. Jak již bylo ovšem řečeno výše, strategie přežití chladu jsou značně variabilní. V rámci tolerance zmrznutí existují nejen velké rozdíly v teplotě, kterou jsou schopny organismy přežít, ale zřejmě i v podstatě evolučního vzniku strategie samotné. Zdá se, že na severní polokouli slouží tolerance zmrznutí k přežití velmi nízkých, ale pravidelných teplot během zimy. Na jižní polokouli se uplatňuje spíše mírná tolerance zmrznutí, která umožňuje přežití krátkých teplotních výkyvů během celého roku. Na rozdíl od vyhýbání se zmrznutí nevyžaduje mírná tolerance zmrznutí náročné a dlouhodobé přípravy v podobě akumulace kryoprotektantů, vyprazdňování trávicího ústrojí nebo hledání vhodného zimoviště. Tolerance zmrznutí je tedy zřejmě strategií, kterou si osvojilo více různých taxonů v rozdílných podmínkách (Sinclair et al. 2003; Chown et al. 2004; Sinclair a Chown 2005).

Sinclair (1999) rozděluje toleranci zmrznutí do čtyř kategorií, na základě rozdílu SCP a LLT:

- 1) Částečná tolerance zmrznutí (*Partial Freeze Tolerance*) – organismy přežívají zmrznutí malé části tělních tekutin, hynou pokud se teplota těla vyrovná s teplotou prostředí
- 2) Mírná tolerance zmrznutí (*Moderate Freezing Tolerance*) – organismy hynou při teplotách méně než 10 °C pod SCP
- 3) Silná tolerance zmrznutí (*Strong Freezing Tolerance*) – druhy s LLT 20 °C a více pod SCP
- 4) Tolerance zmrznutí s nízkým SCP (*Freezing Tolerant with Low SCP*) – ke zmrznutí dochází při nízkých teplotách, hynou však při teplotách jen několik stupňů pod SCP

4.3.1 Poškození způsobená krystalizací

Tvorba ledu s sebou nese značná rizika, i pokud k ní dochází pouze v extracelulárních tekutinách. Jedna skupina rizik je spojena se zvyšující se koncentrací rozpuštěných látek ve zbývajících tekutinách, druhá pak s fyzickými poškozeními způsobenými samotným ledem.

Na rostoucí krystalovou mřížku se připojují pouze molekuly vody, zvyšuje se tak koncentrace rozpuštěných látek ve zbývajícím roztoku a nastává tzv. mrazová koncentrace (Denlinger a Lee 2010). Osmotická nerovnováha vede k přetékání vody z buněk, kde je koncentrace nižší, do extracelulárních prostor s koncentrací vyšší. Dochází k dehydrataci buněk a jejich smrštění (Teets a Denlinger 2013). Samotné smrštění může překročit minimum buněčného objemu a buňka zůstává nevratně poškozena. Nicméně, mechanismů, kterými způsobuje mrazová koncentrace poškození, je zřejmě více. Jedna z hypotéz předpokládá, že nadměrná koncentrace extracelulárních a intracelulárních elektrolytů poškozuje buněčné membrány a vede k cytolýze. Dalším vysvětlením je destabilizace a ztráta materiálu buněčné membrány během dehydratace (Denlinger a Lee 2010).

Mechanická poškození jsou způsobena růstem ledu mezi vrstvami sousedících buněk. Rostoucí krystalová mřížka postupně oddaluje vrstvy buněk, až dojde k jejich nevratnému oddělení. Mohou tak být poškozeny tkáně i celé orgány. Druhým rizikem je rekrytalizace

již zmrzlého roztoku, ke které dochází zejména v teplotách jen mírně pod bodem mrazu. Podstatou rekrystalizace je navazování menších ledových krystalů na krystaly větší, malé krystaly tedy postupně mizí a velké nebezpečně rostou, až mohou poškozovat buňky a tkáně (Zachariassen a Kristiansen 2000; Denlinger a Lee 2010). K ochraně proti rekrystalizaci slouží protimrazové proteiny označované jako inhibitory rekrystalizace, které zajišťují stabilitu velikosti a tvaru krystalů (Margesin et al. 2006).

5 Fyziologické mechanismy chladové odolnosti

Strategie chladové odolnosti jsou uplatňovány zejména pomocí akumulace nebo naopak vyloučení několika skupin látek. Mezi ty základní patří kryoprotektanty, jejichž přítomnost je pro přezimující jedince typická. Dále to jsou nukleátory, využívané u tolerance zmrznutí, a protimrazové proteiny. Důležitým faktorem je také obsah vody v těle, jeho snížení umožňuje hlubší podchlazení a v extrémním případě může představovat samostatnou strategii chladové odolnosti (Denlinger a Lee 2010).

5.1 Kryoprotektanty

Kryoprotektanty (též kryoprotektanty s nízkou molekulární hmotností) představují hlavní pilíř chladové odolnosti. Mají několik funkcí a uplatňují se u vyhýbání i tolerance zmrznutí. Jsou to látky s malými stabilními molekulami, které se snadno rozpouští ve vodě. Zvýšení koncentrace roztoku přináší snížení bodu podchlazení i bodu tání. Dále také podporují vitifikaci (viz str. 28), chrání buňky před nadměrným osmotickým stresem u organismů tolerujících zmrznutí a stabilizují a chrání makromolekuly včetně lipidů a proteinů (Teets a Denlinger 2013; Storey a Storey 2014).

Nejběžnějším kryoprotektantem (a často také jediným) u hmyzu je vícesytný alkohol glycerol (Storey a Storey 2014). Sezónní akumulace glycerolu byla u přezimujícího hmyzu zaznamenána již na konci 50. let 20. století (Salt 1961). Důvodů, proč je právě glycerol nejrozšířenějším kryoprotektantem je pravděpodobně několik – jeho syntéza z glykogenu je jednoduchá a efektivní, snadno se transportuje membránami a na jaře je snadno metabolizován jako zdroj energie (Storey a Storey 2014).

Jako kryoprotektanty působí také řada dalších vícesytných uhlovodíků (alkoholů a cukrů), aminokyselin a jejich derivátů, a metylaminy (Denlinger a Lee 2010; Costanzo 2012). Často se mohou vyskytovat v různých kombinacích, díky čemuž nejsou toxické ani ve vysokých koncentracích (Sømme 1999). Variabilita je značně závislá na druhu (Teets a Denlinger 2013). Běžná je přítomnost trehalózy a prolinu, které stabilizují membrány. Ve zvláště vysokých koncentracích je pak trehalóza přítomna u druhů podstupujících kryoprotektivní dehydrataci (Storey a Storey 2014).

5.2 Nukleátory

Nukleátory (*ice nucleating agents, INAs*) jsou skupinou látek, způsobujících heterogenní nukleaci vodného roztoku. Původ nukleátorů může být organický i anorganický a mohou být přítomny v hemolymfě i jiných částech těla. Značně rozmanitý může být také jejich účinek, tedy teplota při které iniciují nukleaci. Vysoce účinné nukleátory způsobují nukleaci už v -2 až -5 °C, ty nejméně účinné pak až v -18 °C (Denlinger a Lee 2010). Pro druhy tolerující zmrznutí mohou být akumulované nukleátory původcem bezpečného zmrznutí. Naopak u vyhýbání se zmrznutí je časté záměrné vyloučení nukleátorů z trávicího traktu. Nukleátory obsažené ve střevě mohou mít podobu zrnek minerálního prachu nebo mikroorganismů (Sømme 1999; Clark a Worland 2008).

Vzhledem k variabilitě původu lze rozdělit nukleátory do tří kategorií – nukleační proteiny, krystaloidní sloučeniny a nukleační mikroorganismy (Denlinger a Lee 2010).

Nukleační proteiny iniciují nukleaci při relativně vysokých teplotách pod bodem mrazu (-6 až -10 °C) (Denlinger a Lee 2010). Organismům tolerujícím zmrznutí tak mohou zajistit bezpečné zmrznutí – pozvolné a soustředěné pouze do extracelulárních prostor. Postupná extracelulární krystalizace snižuje nebezpečí osmotického stresu způsobeného mrazovou koncentrací rozpuštěných látek a zároveň poskytuje čas k mobilizaci dalších mechanismů chladové odolnosti, např. syntéze kryoprotektantů (Denlinger a Lee 2010). Další funkcí iniciace zmrznutí za relativně vysokých teplot může být předcházení ztrátám energie a vody, neboť ve zmrzlém stavu dochází k významnému zpomalení metabolismu (Denlinger a Lee 2010).

Krystaloidní sloučeniny jsou látky anorganického původu. U přezimujícího hmyzu byla nalezena již řada těchto látek, např. kyselina močová, uhličitán vápenatý a fosforečnan draselný (Denlinger a Lee 2010).

Mikroorganismy v trávicím traktu hmyzu patří mezi významné nukleátory. Některé mohou iniciovat nukleaci již při -1 až -2 °C (Sømme 1999; Denlinger a Lee 2010). Typickými zástupci jsou bakterie vyskytující se na povrchu rostlin, které jsou konzumovány fytofágním hmyzem a jsou také běžnou součástí jeho střevní flóry. V larvách

zavíječovitých (Pyralidae), které tolerují zmrznutí, byla objevena aktivně nukleující houba rodu *Fusarium*, výrazně snižující jejich SCP. Zdá se, že se jedná o mutualistický vztah – larva může bezpečně zmrznout, houba získává útočiště a živiny (Denlinger a Lee 2010).

5.3 Protimrazové proteiny

Významným prvek chladové odolnosti je syntéza protimrazových proteinů (*antifreeze proteins, AFPs*) někdy též označovaných jako proteiny termální hystereze (*thermal hysteresis proteins, THPs*) nebo kryoprotektanty s vysokou molekulární hmotností. Protimrazové proteiny snižují bod tuhnutí (FP), nikoliv však bod tání (MP), a rozdíl mezi těmito dvěma body je označován jako termální hystereze. Snížení bodu tuhnutí je docíleno aktivním navazováním molekul proteinů na vznikající ledová jádra, na která se tak nemohou navazovat další molekuly vody (Sømme 1999). Rozsah termální hystereze je dán především specifickou aktivitou a koncentrací daného proteinu, popřípadě přítomností některých dalších látek zesilujících účinnost (Duman 2001).

Funkcí protimrazových proteinů je několik. Snížení bodu tuhnutí (termální hystereze) poskytuje ochranu před zmrznutím, zvýšená koncentrace AFPs je také spojována s koligativním snížením bodu podchlazení. V první řadě však mohou díky inhibici rostoucích krystalů stabilizovat stav podchlazení (Husby & Zachariassen 1980 in Sømme 1999). Významná je také jejich funkce při ochraně před inokulativním zmrznutím, které je iniciováno kontaktem s vnějším ledem. Částečnou ochranu hmyzu poskytuje vosková vrstva kutikuly, přesto se skrz ni nebo tělními otvory může do těla dostat vlhkost nebo suspenze s bakteriální nukleátory. Protimrazové proteiny, nacházející ve vrstvě epidermálních buněk pod kutikulou, se mohou na vznikající ledové krystaly navazovat a bránit tak krystalizaci tekutin uvnitř těla (Olsen et al. 1998; Duman 2001). Pro všechny organismy však není inokulativní zmrznutí nebezpečím. Bylo objeveno několik zástupců tolerantních ke zmrznutí, kteří inokulativního zmrznutí využívají k iniciaci zmrznutí za vyšších teplot (Denlinger a Lee 2010).

Nedávné objevy ukazují, že proteiny nejsou jedinými látkami způsobujícími termální hysterezi. Stejně mohou působit také glykolipidy, jak ukazuje přítomnost xylomannanu

objeveného u některých přezimujících rostlin a živočichů. Xylomannan bývá vázán přímo na buněčné membráně, zřejmě tak brání proniknutí ledu do cytosolu a popřípadě membránu stabilizuje (Walters et al. 2011).

5.4 Hospodaření s vodou a ledem

Dalším důležitým faktorem ovlivňujícím chladovou odolnost a přežití mrazivých teplot je obsah a regulace vody uvnitř těla. Na základě hospodaření s vodou byly definovány dokonce dvě samostatné strategie chladové odolnosti – kryoprotektivní dehydratace a vitifikace (Denlinger a Lee 2010; Storey a Storey 2014). Voda je však významným prvkem pro všechny přezimující bezobratlé organismy, ať už se jedná o koncentraci v ní rozpuštěných látek nebo její distribuci v jednotlivých částech těla (Denlinger a Lee 2010). Zároveň je zimní (a zejména polární) prostředí často velmi skoupé na vodu v tekutém skupenství, kromě teplot samotných se tak jedná o další překážku se kterou se musí organismy vypořádat (Sørensen a Holmstrup 2011).

Snížení obsahu vody v těle vede ke zvýšení koncentrace rozpuštěných látek a tedy i k prohloubení schopnosti podchlazení, čehož využívají zejména druhy vyhýbající se zmrznutí. Na druhé straně je ovšem nutné zabránit přílišným ztrátám vody. Hmyz vyhýbající se zmrznutí je obvykle chráněn relativně nepropustnou kutikulou, která redukuje ztráty vody odpařováním. U druhů tolerujících zmrznutí je voda fixována v těle ve formě ledu. V případě obou strategií je tedy voda uchována uvnitř těla přezimujícího jedince. Malí půdní živočichové polárních oblastí, jako jsou někteří chvostoscoci nebo hlístice, často nejsou vybaveni dostatečnou ochranou proti ztrátám vody skrze kutikulu. Právě na dehydrataci však stojí jejich alternativní strategie přežití zimy – kryoprotektivní dehydratace (Wharton et al. 2003; Elnitsky et al. 2008; Sørensen a Holmstrup 2011).

5.4.1 Kryoprotektivní dehydratace

Po dlouhou dobu byly strategie přežití zimy děleny pouze na vyhýbání s zmrznutí a toleranci zmrznutí. V nedávné době však bylo objeveno několik skupin arktických a subarktických bezobratlých živočichů, kteří hynou, pokud dojde k tvorbě ledu uvnitř těla

a jsou zároveň schopné jen relativně nízké míry podchlazení (mezi -5 až -12 °C) (Holmstrup et al. 1999; Holmstrup 2003; Sørensen a Holmstrup 2011).

Pro kryoprotektivní dehydrataci je nezbytná vysoká propustnost tělního obalu, umožňující rychlou dehydrataci být jen v mírně desikačním prostředí. Pokud je živočich s nezmrzlým tělním obsahem na vzduchu a obklopen zmrzlým substrátem, dochází k jeho rychlé dehydrataci. Příčinou je výrazně vyšší tlak odpařování podchlazeného roztoku než již zmrzlého ledu stejné teploty (Holmstrup 2003). Voda prostupuje tělesným obalem živočicha, kondenzuje a váže se na okolní led. Ztráta vody pokračuje, dokud není dosaženo rovnováhy tlaku odpařování tělesných tekutin a okolního ledu. Pak je riziko zmrznutí zažehnáno, neboť tekutiny již nejsou v podchlazeném stavu a jejich bod tání je roven okolní teplotě (Holmstrup 2003; Wharton et al. 2003; Elnitsky et al. 2008; Denlinger a Lee 2010). Některé druhy dosahují rovnováhy mezi teplotou tání s pomocí akumulovaných kryoprotektantů, např. glycerolu (Denlinger a Lee 2010).

Prvním zaznamenaným živočichem užívajícím kryoprotektivní dehydrataci byla žížala *Dendrobaena octaedra*, respektive její kokon s vajíčky (Holmstrup 2003). V současné době známe už řadu zástupců ze skupiny roupicovitých (Enchytraeidae), hlístic (Nematoda) a chvostoskoků (Collembola) (Wharton et al. 2003; Denlinger a Lee 2010). U hmyzu byla zaznamenána u larev pakomára *Belgica antarctica* (Elnitsky et al. 2008).

5.4.2 Vitifikace

Poškozením způsobeným tvorbou ledu uvnitř těla se lze vyhnout také pomocí vitifikace. Voda se v takovém případě nachází v amorfním stavu a viskozitou se blíží sklu. Předností vitifikace je, že rozpuštěné látky i voda zůstávají v intracelulárních i extracelulárních prostorech, nehrozí tak riziko mrazové koncentrace ani riziko mechanického poškození buněk ledem (Denlinger a Lee 2010).

Vitifikace je běžně používaná metoda kryoprezervace mikroorganismů, rostlinných pletiv a některých savčích embryí a buněk. V přírodě je však zaznamenána pouze výjimečně. Poprvé tomu bylo u rostlin (Hirsh et al. 1985 in Denlinger a Lee 2010).

Přezimující larvy aljašského brouka z čeledi lesákovitých *Cucujus clavipes puniceus* jsou schopny pomocí akumulace kryoprotektantů, protimrazových proteinů a dehydratace rekordního podchlazení i termální hystereze. Podařilo se u nich prokázat absenci ledových krystalů při teplotě až -80 °C, objevily se tedy spekulace, zda se v jejich těle nenachází voda ve vitrifikovaném stavu (Bennett et al. 2005). Tato domněnka byla záhy potvrzena – larvy jsou podchlazeny do teploty -76 °C, poté dochází k vitrifikaci, která umožňuje krystalizaci oddálit až do teploty -150 °C (Sformo et al. 2010). Dalším známým živočichem schopným vitrifikace je octomilka *Chymomyza costata*, jejímž larvám vitrifikace umožňuje přežít ponoření do tekutého dusíku (-196 °C) v plně hydratovaném stavu (Košťál et al. 2011).

5.5 Diapauza

Diapauza představuje stav omezení a zpomalení fyziologických pochodů, zpravidla pro přežití v podmínkách obecně nevhodných pro vývoj nebo reprodukci. Mezi ty mohou patřit období nízkých teplot nebo sucha, ve kterých by normální aktivita znamenala letální desikaci (Pullin 1996). Diapauza je obvykle vázána pouze na jedno specifické životní stádium, známá je u vajíček, larev, kukel i dospělců (Denlinger 1991; Pullin 1996). Diapauzu lze rozdělit na obligátní a fakultativní. Obligátní diapauza je nezbytnou součástí životního cyklu a vyskytuje se u každé generace. Fakultativní diapauza je značně rozšířenější a je závislá na faktorech prostředí jako fotoperioda a teplota, které předcházejí změnu ročního období (Denlinger 1991). Přípravy na vstup do diapauzy zahrnují akumulaci nutričních rezerv a vyhledání vhodného zimoviště (Denlinger 1991; Pullin 1996).

Vazba diapauzy na chladovou odolnost byla po dlouho dobu poněkud kontroverzním tématem. Někteří autoři pokládali diapauzu za zcela samostatný jev, jiní ji pokládali za nezbytnou podmínku pro vznik chladové odolnosti. Denlinger (1991) přinesl jisté rozuzlení – vytvořil několik kategorií vztahu mezi diapauzy a chladové odolnosti. V prvním případě je absence spojení zřejmá (absence diapauzy, vývojová stadia bez diapauzy, tropické druhy, letní diapauza,...), ve druhém případě se diapauza s chladovou odolností překrývá a otevírá se tak možnost vzájemného vztahu. V současnosti je známa

řada případů, které tento vztah potvrzují (Denlinger 1991; Pullin 1996; Hodková a Hodek 1997; Goto et al. 2001; Hodková a Hodek 2004).

Příkladem nezávislosti diapauzy a chladové odolnosti mohou být larvy zavíječe kukuřičného *Ostrinia nubilalis*. Larvám byla navozena diapauza zkrácením denního světla, nicméně míra chladové odolnosti se oproti kontrolním jedincům nijak nezvýšila. Ke zvýšení chladové odolnosti došlo až procesem chladové aklimace (Denlinger 1991). Naproti tomu masařka (rod *Sarcophaga*) zvyšuje chladovou odolnost po uměle indukované diapauze i pokud nedošlo ke snížení teploty. Později už je pomocí aklimace pouze zvýšena (Denlinger 1991). Dalším příkladem může být ruměnice pospolná *Pyrrhocoris apterus*. Při pokusech Hodkové a Hodka (1997) jedinci podstupující diapauzu dosahovali nižších hodnot SCP než jedinci bez diapauzy. Zároveň však dosahovali velmi nízkého SCP jedinci odchycení během ledna a počátkem února, u nichž byla diapauza již ukončena. Zřejmě se tedy na zvýšení chladové odolnosti podílí jak diapauza, tak chladová aklimatizace (Hodková a Hodek 1997).

6 Zimní aktivita bezobratlých živočichů

Pravděpodobně mnoho rodičů a učitelů někdy slyšelo otázku: „a co dělají broučci v zimě?“. Častou odpovědí nejspíše bylo, že se schovají a zimu „prospí“. Není to však v řadě případů pravda. Díky tomu se nám může otevírat prostor k novým tématům výuky či doplnění témat stávajících o pozorování v zimním prostředí.

Zimní období je pro mnoho bezobratlých živočichů skutečně obdobím klidu. Nicméně řada zástupců je aktivní, i když je země pokryta sněhem. Tyto „hmyzí otužilce“ můžeme rozdělit do dvou skupin na základě periodicity výskytu sněhové pokrývky v prostředí, kde se nacházejí. První skupinou je takzvaná „pravá zimní fauna“, tedy živočichové temperátních oblastí aktivní během zimních měsíců. Druhá skupina představuje takzvanou „nivální faunu“, vyskytující se ve vysokohorských nebo ledovcových oblastech se sněhovou pokrývkou permanentní (Aitchison 2001; Jaskula a Soszyńska-Maj 2011). Kritériem zimní aktivity může být samotný pohyb. Aitchison (1984) definuje jako „aktivní v zimě“ ty živočichy, kteří vykazují horizontální mobilitu při teplotách 2 °C a nižších. Pohyb však zdaleka není jediným projevem aktivity, někteří zástupci využívají zimní období i k příjmu potravy či rozmnožování. Ve výjimečných případech může být živočich aktivní pouze v zimě a v létě zůstat v dormantním stavu. Tak je tomu například u chvostoskoka *Ceratophysella sigillata* (Block a Zettel 2003).

U druhů vyskytující se v chladném prostředí můžeme pozorovat určité morfologické adaptace. Častá je brachypterie nebo apterie, neboť nízké teploty znesnadňují až znemožňují let. Vyšší efektivita lokomoce může být docíleno skákáním (např. u chvostoskoků a sněžnic) nebo prodloužením končetin. Dalšími přizpůsobeními jsou například menší velikost těla, umožňující prostup sněhem, větší množství chloupků nebo melanismus (Hågvar 2010; Gilka et al. 2013; Soszyńska-Maj a Woźnica 2016).

6.1 Prostředí sněhu

Sněhová pokrýвка představuje na severní polokouli důležité sezónní útočiště nejen pro bezobratlé živočichy, ale také pro řadu dalších organismů, včetně obratlovců a rostlin. Význam sněhu spočívá především v jeho izolačních vlastnostech a nízké termální

vodivosti, které umožňují vytvoření relativně stabilního klima mezi sněhovou pokrývkou a zemí (Aitchison 2001; Pauli et al. 2013; Petty et al. 2015).

Půda pod sněhem uvolňuje teplo, díky tomu se zde shromažďuje teplý a vlhký vzduch, který poté prostupuje sněhovou pokrývkou. Vzduch se postupně ochlazuje a vodní pára kondenzuje, čímž vytváří vertikální gradient zvětšující se velikosti sněhových krystalů a také vzniká bazální vrstva sněhu, která je zrnitá a relativně sypká. Izolační vlastnosti sněhu stoupají se zvyšující se mocností pokrývky, ale naopak klesají se zvyšující se hustotou (Pauli et al. 2013; Petty et al. 2015). Přesáhne-li ovšem vrstva mocnosti 15–30 cm, izolační schopnosti se zvyšují už jen mírně a je utvořeno stabilní mikroklima zvané hiemální (sněžný) práh (*hiemal threshold*) (Aitchison 2001). Stabilního prostředí pod sněhem je zpravidla dosaženo během nejchladnějších zimních měsíců, proto může být v tomto období také, možná poněkud překvapivě, nejvyšší aktivita některých živočichů (Vanin a Masutti 2008).

Sněhová pokrývka je přechodem mezi chladným, suchým, větrným a nestabilním prostředím na povrchu a relativně vlhkým a teplým klimatem vespodu. Díky tomu se kolem ní utváří tři rozdílná mikroprostředí (Aitchison 2001; Hågvar 2010):

1. Subnivální mikroprostředí (subnivium) – představuje důležité útočiště, jehož klima umožňuje přežití a aktivitu největšímu množství živočichů. Teplota se zde může držet kolem 0 °C i ve chvíli, kdy teploty vnějšího prostředí klesají až k -22 °C (Merriam et al. 1983). Subnivium je „základním“ prostředím, ze kterého mohou někteří živočichové za vhodných podmínek migrovat do vyšších vrstev sněhu nebo na povrch.
2. Intranivální mikroprostředí – tedy samotná sněhová pokrývka. Teploty jsou zde nižší než v subniviu, ale často vyšší a především stabilnější než na povrchu. Nacházet se zde mohou zejména vertikálně migrující chvostoskoci a roztoči, kterým nízká velikost umožňuje prostupovat póry mezi sněhovými krystaly. Někteří z nich mohou za dostatečně vysokých teplot migrovat až na povrch, s klesajícími teplotami se naopak pohybují do nižších vrstev, popřípadě až do

subnivie. Mezi migrujícími živočichy lze nalézt i větší členovce – pavouky a hmyz. Nepatří ovšem mezi intranivální faunu v pravém slova smyslu, neboť se pohybují pouze většími otvory ve sněhu (např. podél vegetace) a nejsou schopni prostupu přímo póry mezi sněhovými krystaly.

3. Supranivální mikroprostředí – zcela podléhá vnějším atmosferickým vlivům, je však prostředím aktivity některých specializovaných živočichů, kteří v něm mohou přijímat potravu, rozmnožovat se či přijímat teplo ze slunce. Sněhová pokrývka může také usnadňovat migraci na větší vzdálenosti. Bezobratlí živočichové přizpůsobení k aktivitě v supraniválním prostředí bývají označováni jako „sněžná fauna“. Často je však přítomnost živočichů na sněhu pouze náhodná – jedná se například o hibernující hmyz spadlý ze stromu nebo tzv. eolickou faunu, navátou na sněhová pole z nižších nadmořských výšek (Hågvar a Østbye 1973; Aitchison 2001; Hågvar 2007). Mezi pravou sněžnou faunu patří někteří zástupci chvostoskoků, roztočů, pavouků a hmyzu (Aitchison 2001).

6.2 Systematický přehled sněžné fauny

Sněžné prostředí je prostorem aktivity celé řady živočichů. Většina z nich je však aktivní pouze v subniviu. Mezi ryze subnivální zástupce patří někteří plži (Gastropoda), máloštětinatci (Oligochaeta), korýši (Crustacea) a stonožkovci (Myriapoda). Do skupin, které se mohou vyskytovat také na sněhové pokrývce, patří zejména někteří chvostoskoci (Collembola), pavoukovci (Arachnida) a hmyz (Insecta) (Merriam et al. 1983; Aitchison 2001; Hågvar 2010).

Následující přehled bude zaměřen na nejběžnější a nejvýraznější zástupce sněžné fauny. Tedy především na ty, které lze potkat či sbírat přímo na sněhové pokrývce.

6.3 Pavoukovci

Mezi pavoukovci najdeme řadu zástupců aktivních v zimě a za vhodných podmínek i přímo na sněhové pokrývce. Nejčastěji lze na sněhu nalézt pavouky (Araneae), nicméně i řády roztoči (Acari), štírci (Pseudoscorpiones) a sekáči (Phalangida) mohou být

významnou součástí zimních ekosystémů (Merriam et al. 1983; Aitchison 2001; Hågvar 2010).

6.3.1 Roztoči (*Acari*)

Roztoči jsou značně rozmanitým řádem. Běžně se vyskytují v půdě nebo na jejím povrchu, není tedy překvapením, že patří k významné skupině subnivální fauny. Často je lze však nalézt také v intraniválním prostoru. Prostup mezi krystaly ledu jim umožňuje, stejně jako chvostoskokům, zejména malá velikost těla. Místo aktivity „sněžných“ roztočů se odvíjí od aktuálních podmínek prostředí. Jsou-li teploty nízké, mohou se schovávat do hlubších vrstev sněhu, subnivia, popřípadě až do půdy (Aitchison 2001; Hågvar 2010). Roztoči jsou významnou součástí potravního řetězce, sloužící jako potrava větším bezobratlým živočichům, například pavoukům. Sami jsou pak často detritofágy nebo predátory, lovící chvostoskoky a jiné malé bezobratlé živočichy (Aitchison 1984, 2001). Výskyt roztočů byl zaznamenán v Himálaji do výšky 5000 m n. m., na subantarktických ostrovech a na Antarktidě, a to i v mrazivých teplotách (Aitchison 2001).

6.3.2 Pavouci (*Araneae*)

Pavouci jsou významnými zástupci sněžné fauny a je možné je často pozorovat v supraniválním prostředí. V subniviu byla zaznamenána aktivita až do teploty $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$. V supraniválním prostředí je většina druhů aktivních při teplotách $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ a vyšších, některé ovšem udržují aktivitu až do teplot $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Hågvar 2010). Mezi pavouky se zimní aktivitou patří zejména zástupci z čeledí plachetnatkovitých (Linyphiidae), běžníkovitých (Thomisidae), skálovkovitých (Gnaphosidae) a slíďákovitých (Lycosidae) (Aitchison 2001).

Udržení aktivity některých pavouků během zimy je umožněno díky zrychlenému metabolismu. Zvýšená spotřeba energie je z části pokryta lipidovými zásobami, nicméně příjem potravy je nezbytný. Pavouci, jakožto výhradní predátoři a potravní oportunisté, konzumují jakoukoliv kořist, která je na blízku. Nejčastěji to jsou chvostoskoci s tenkou kutikulou. Pro malé pavouky jsou potravou především saprofágní a detritofágní živočichové – malí roztoči, chvostoskoci a hmyz řádu dvoukřídlí. Pavouci aktivní

v zimním prostředí obvykle přijímají potravu při teplotách mírně nad 0 °C, výjimečně však až do -5 °C (Aitchison 1984).

6.4 Chvostoskoci

Chvostoskoci jsou drobnými, ale významnými, zástupci zimní fauny. Nejčastěji je lze pozorovat na sněhové pokrývce při teplotách mírně nad 0 °C, u některých druhů však byla zaznamenána aktivita až do -10 °C (Sømme 1976; Hågvar 2000; Aitchison 2001; Block a Zettel 2003; Hågvar 2010). Při poklesu teplot (například v noci) se chvostoskoci přesunují z povrchu do nižších vrstev sněhu, kde hledají stabilnější a mírnější klima (Sømme 1976). Překvapivé však může být, že někteří půdní chvostoskoci migrují ze země směrem vzhůru, do spodních vrstev sněhu. Zřejmě, aby se vyhnuli nebezpečí promáčení a zmrznutí ve svrchní vrstvě půdy (Hågvar 2000). Mezi nejběžnější chvostoskoky aktivní během zimy patří zejména rody *Isotoma*, *Hypogastrura*, *Onychiurus* a druhy *Podura aquatica* a *Entobrya nivalis* (Sømme 1976).

Sněhová pokrývka umožňuje chvostoskokům migraci na velké vzdálenosti. Mohou tak zakládat nové populace nebo podporovat genový tok mezi populacemi (Hågvar 2000). Některé druhy migrují ve velkých a vysoce organizovaných skupinách. Například chvostoskok evropských temperátních lesů *Ceratophysella sigillata* vytváří shluky ve tvaru pásu nebo srpu o šířce až 50 m a čítající miliony jedinců (Block a Zettel 2003). Velké agregace *Hypogastrura socialis* mohou za vhodného počasí překonat vzdálenost až 300 m za den (Hågvar 2000).

Chvostoskoci se při migraci často orientují pomocí přímého či polarizovaného slunečního světla. Před každým skokem nastává orientační fáze, při které chvostoskok vyhodnotí svou pozici a natočí se vůči slunci tak, aby udržoval přímý směr. Na kvalitě světla je silně závislá rychlost orientace a určování směru. Při zhoršené viditelnosti slunce se orientační doba prodlužuje a je-li zcela zataženo, může se migrace i zcela zastavit – jedinci se pak pohybují pomalu a spíše náhodným směrem. Zdá se však, že někteří zástupci jsou schopni pohybu na krátké vzdálenosti, orientují se pomocí kontrastních vzorů v okolí, resp. tmavých a světlých předmětů (Hågvar 2000). Zajímavý způsob pohybu vykazuje

Hypogastrura socialis nebo příbuzný druh *Ceratophysella sigillata*. Jedinci po doskoku obvykle zůstávají ve vzpřímené pozici s hlavou vzhůru – přichycení abdominální částí na sněhovou pokrývku umožňují prodloužené anální váčky. Cílem je zřejmě minimalizace horizontální rotace. Po přibližně jedné vteřině se jedinec přesunuje do horizontální pozice a určuje směr před dalším skokem. Určení směru je individuální, jedinci se tak mohou rovnoměrně rozprostřít (Hågvar 2000, 2010). Alpinský druh *Vertagopus westerlundi* se zřejmě neorientuje podle slunce, ale míří směrem k vysokým objektům. Naproti tomu druh *Vertagopus sarekensis* se sice orientuje podle slunce, ale při určování směru nekompensuje pohyb Země vůči Slunci, jeho trasa tedy vytváří oblouk (Leinaas & Fjellberg 1985 in Hågvar 2000).

Někteří chvostoscoci, aktivní v supraniválním prostředí, procházejí mezi létem a zimou reverzibilní morfologickou proměnou – cyklomorfózou. Před zimou u nich dochází ke svlékání, během kterého je přeměněn skákací aparát. Furka (skákací vidlice) se mění na zimní, podstatně komplexnější formu. Dochází k nárůstu její velikosti a počtu a délky chloupků. Zimní forma furky umožňuje efektivnější skákání na kluzkém ledu a sněhu. Chvostoskokem podstupujícím cyklomorfózu je například *Isotoma hiemalis* (Aitchison 2001; Hågvar 2010).

Krajním příkladem přizpůsobení k aktivitě během zimy je již zmíněný druh *Ceratophysella sigillata*. Jako jediný známý chvostoskok má hlavní růstové období během zimy, v létě zůstává dormantní (Zettel et al. 2002).

6.5 Hmyz

6.5.1 Brouci (Coleoptera)

Brouci jsou velmi rozmanitým řádem hmyzu a někteří z nich se přizpůsobili i aktivitě ve sněžném prostředí. Mezi brouky aktivními v subniválním prostředí převažují zástupci čeledí drabčíkovití (Staphylinidae), střevlíkovití (Carabidae) a páteříčkovití (Cantharidae) (Aitchison 2001; Jaskula a Soszyńska-Maj 2011). Aktivita v subniviu bývá obvykle udržována při teplotách kolem 0 °C, výjimečně až do -4 °C (Heydemann 1956 in Aitchison 2001). Supranivální aktivitu lze pozorovat především na ledových polích a ledovcových

jazycích. Brouci zde vyhledávají potravu ve formě navátých menších bezobratlých živočichů (Hågvar 2010). Mezi brouky se supranivální aktivitou patří na příklad larvy páteříčkovitých (Cantharidae), které jsou také tolerantní ke zmrznutí. Pokud dojde na povrchu sněhu k jejich zmrznutí, mohou se po vzestupu teplot opět zotavit (Vanin et al. 2008).

Mezi brouky aktivními v subniviu se mohou vyskytovat jak larvy, tak dospělci. Larvy dominují především u páteříčkovitých (Vanin et al. 2008). U drabčíkovitých naproti tomu převažují aktivní dospělci (Merriam et al. 1983).

Střevlíkovití (Carabidae) mohou být aktivní v průběhu zimy. Na konci podzimu se však aktivita obvykle snižuje, prochází uprostřed zimy minimem a zvyšuje se až opět počátkem jara. Subnivální zástupci jsou zřejmě několika násobně početnější než ti vyskytující se na povrchu sněhu. Zimní aktivita se ovšem nemusí omezovat na sněhovou pokrývku, někteří zástupci se mohou vyskytovat také na kmenech stromů (Jaskula a Soszyńska-Maj 2011).

6.5.2 Srpice (Mecoptera)

Mezi srpicemi můžeme nalézt jedny z nejznámějších zástupců sněžné fauny – sněžnice (*Boreus* spp.), patřící do čeledi sněžnicovití (Boreidae). V České republice se vyskytují dva druhy: sněžnice matná (*Boreus hyemalis*) a sněžnice lesklá (*Boreus westwoodi*). Specifickými adaptacemi sněžnic na zimní aktivitu je brachypterie, tedy redukce křídel, a způsob lokomoce – skákání.

Životní cyklus sněžnic je pevně vázán na zimní období – samice produkují vajíčka od podzimu do jara. Ke kopulaci často dochází pod sněhovou pokrývkou, je-li přítomna, a první kladení vajíček bývá načasováno na počátek zimy. Vývoj larev probíhá v půdě porostlé mechem, který larvám i dospělcům slouží jako útočiště a potrava. Dospělci se z larev líhnou na podzim a je možné je na sněhové pokrývce potkat v průběhu celé zimy (Hågvar 2001). Nejčastěji lze supranivální aktivitu pozorovat během zatažených, ale klidných dnů s teplotami -1 až 2 °C. Při poklesu teplot pod -2 až -3 °C je aktivita již jen výjimečná a jedinci se stahují do subnivia (Sømme a Østbye 1969; Hågvar 2001). Sněžnice lesklá byla ovšem zaznamenána při aktivitě i v -13 °C (Strübing 1958 in Sømme a Østbye

1969). Pohyb na sněhu je často pomalý nebo se jedinci zdržují na místě, pravděpodobně kvůli absorpci tepelného záření, uplatňujícího se při vývoji vajíček. Druhým důvodem k výstupu na sněhovou pokrývku je zřejmě migrace (Hågvar 2001).

Sněžnice vykazují některé podobné adaptace k pohybu v zimním prostředí jako chvostoskoci, jedná se zejména o způsoby navigace a lokomoce. Navigace se uplatňuje při migraci, jejímž účelem je pravděpodobně roznášení vajíček a hledání nových potravních zdrojů, popřípadě únik před predátory. Určování směru zřejmě probíhá na základě orientace k severu a k pozici slunce. Směr migrace může být různý, jedinec je ovšem schopen udržet jeho stálost. Pomocí kontinuálního skákání mohou sněžnice urazit vzdálenost až 1,2 m za minutu (Hågvar 2001).

Skákání se zdá být vhodným způsobem lokomoce v zimním prostředí z několika důvodů. Na sněhového povrchu je efektivnější než chůze, zvláště v nízkých teplotách, zároveň poskytuje možnost rychlého úniku před predátory (Burrows 2011). Skákač mechanismus sněžnic je mezi členovci poměrně výjimečný – skok je uskutečňován simultánním pohybem prostředního a zadního páru končetin. Využití dvou párů končetin umožňuje širší rozložení reakčních sil na odrazovou plochu, což je výhodné na měkkém povrchu, v tomto případě sněhu. Těžiště je při odrazu mezi oběma páry končetin, které jsou zároveň proti sobě v opozici, díky tomu dochází k minimalizaci rotace během skoku. Při použití dvou párů končetin se také uplatňuje více svalů a odraz může být silnější. Skoků je často více za sebou a jeden může být na vzdálenost až 10 cm (Burrows 2011).

6.5.3 Dvoukřídlí (Diptera)

Dvoukřídlí patří k nejpočetnějším řádům zimní fauny (Soszyńska 2004; Vanin a Masutti 2008). Přestože většina aktivních zástupců je soustředěna v subniválním prostředí, lze řadu zástupců potkat také na sněhové pokrývce.

Výzkum Soszyňské (2004), sledující sněžnou aktivitu bezobratlých v centrálním Polsku, uvádí, že 50 % všech chycených zástupců patří právě do řádu dvoukřídlí. Dohromady bylo zaznamenáno 83 druhů z 27 čeledí dvoukřídlných.

Chladová odolnost i teplota, ve které zůstávají jednotlivé skupiny aktivní, je značně variabilní. Mezi nejodolnější zástupce patří pakomár himálajských ledovců rodu *Diamesa*, u kterého byl zaznamenán pohyb i při teplotě -16 °C (Koshima 1985 in Gilka et al. 2013)

Dále bude věnována pozornost několika nejvýznamnějším skupinám – rodům pavoučnice (*Chionea*) a a tiplička (*Trichocera*) a čeledím pakomárovití (Chironomidae) a lanýžkovití (Heleomyzidae).

Rod pavoučnice (*Chionea*)

Pavoučnice jsou drobnými zástupci čeledi bahnomilkovití (Limoniidae). Podobně jako sněžnice, jsou také pavoučnice brachypterní, na rozdíl od nich však nejsou schopny skákání. Pohybují se chůzí, připomínající chůzi pavouků. V Evropě se vyskytuje 14 druhů, nejvyšší rozšíření je v severní Evropě a Alpách. Mezi nejběžnější druhy patří *Chionea araneoides* a *Chionea lutescens* (Vanin a Masutti 2008; Hågvar 2010). Ve Skandinávii jsou oba druhy aktivní od listopadu do března s vrcholem aktivity v lednu. Pohyb na sněhové pokrývce byl zaznamenán při teplotách -6 až 1 °C, s nejvyšší hustotou výskytu při -4,5 °C. Je tedy zřejmé, že jsou sněžnice aktivní ve stavu podchlazení. Chladové koma nastává při teplotách kolem -6 až -7 °C a letální teplota je přibližně -7,5 °C, sněžnice se tak pohybují na hraně přežití (Hågvar 2010). Z tohoto důvodu jsou stěžejními faktory pro supranivální aktivitu nejen teplota, ale také stabilita počasí bez rizika nenadálého poklesu teplot. Zpravidla je to počasí bez větru, zatažené a často se sněžením či krátce po něm (Sømme a Østbye 1969; Hågvar 2010).

Hågvar (2010) uvádí, že pokud jsou dva jedinci opačného pohlaví umístěni na sněhovou pokrývku blízko sebe, začnou se spontánně pářit. Přesto bývá kopulace na sněhu pozorována spíše výjimečně, pravděpodobně kvůli nízké hustotě výskytu. Je také možné, že k ní dochází již během podzimu, kdy ještě nenapadl sníh, nebo v subniviu (Hågvar 2010). Dospělé pavoučnice v průběhu zimy zřejmě nepřijímají potravu a většinu jejich abdominálního prostoru zabírají vajíčka, kterých je přibližně 100. Kladení probíhá postupně – samička naklade do půdy vždy jen několik vajíček, poté se přesunuje na jiné místo. Vajíčka jediné samice se tak mohou značně rozšířit (Hågvar 1976, 2010).

Rod tiplička (*Trichocera*)

Rod tiplička (*Trichocera*) čítá asi 100 výhradně holoarktických druhů, v České republice bylo zaznamenáno druhů 30 (Jedlička et al. 2009; Hågvar 2010). Někteří zástupci tipliček mohou běžně létat v zasněžených oblastech i při teplotách mezi 1 a 3 °C. Chůze na sněhu a pokusy o let byly pozorovány i v podchlazeném stavu až do -4 °C (Hågvar 2010).

Larvy tipliček se vyvíjejí ve vlhkém prostředí mezi rozkládající se organickou hmotou. Délka larválního stádia může být značně variabilní – některé druhy mohou růst za nízkých zimních teplot a naopak během léta vývoj zastavit. Dospělci se obvykle objevují od podzimu do jara, v závislosti na druhu a klimatických podmínkách. Období rojení je silně závislé na regionu. Zatímco v subarktických a arktických oblastech k němu dochází během chladného a krátkého léta, v oblastech subboreálních a boreálních je nejčastější během podzimu (Hågvar 2010).

Původně se tipličky vyskytují výhradně na severní polokouli, nicméně, během antarktického léta (astronomické zimy) 2006-2007 byl poprvé zaznamenán výskyt druhu *Trichocera maculipennis* na Antarktidě. Larvy se pohybovaly v odpadním systému uruguayské vědecké základny a dospělci létali v okolí (Volonterio et al. 2013).

Čeled' pakomárovití (Chironomidae)

Čeled' pakomárovití čítá řadu druhů aktivních v zimním období, nicméně ne všechny lze považovat za zimní faunu v užším slova smyslu. Některé druhy jsou sice schopny reprodukce na sněhové pokrývce a jsou dobře přizpůsobeny nízkým teplotám, rozmnožování však u nich není omezeno pouze na zimu – mohou se rozmnožovat také na podzim, kdy ještě není země pokryta sněhem (Hågvar a Østbye 1973). Mezi druhy, u nichž není reprodukce omezena striktně na zimu, patří například *Chaetocladius laminatus*, *Diamesa bohemani* nebo *Pseudodiamesa branicky*. Jejich dospělci se ve Skandinávii objevují během podzimu i zimy, možná se tak souběžně vyskytují dvě generace, přičemž každá má roční životní cyklus (Hågvar a Østbye 1973). Někdy může být líhnutí rozprostřeno do různých částí roku. Například u druhu *Diamesa thiemanni* k němu může

docházet během celé zimy. Pokud by bylo líhnutí omezeno pouze na jednu nebo dvě periody, hrozily by značné ztráty při prudkých ochlazení (Jonsson a Sandlund 1975).

Hågvar a Østbye (1973) považovali samotnou zimní aktivitu u pakomárovitých spíše za výjimečný jev. Jiní autoři s tím ovšem nesouhlasí a pokládají tuto domněnku za výsledek složité taxonomie čeledi a nedostatečného výzkumu během zimy (Jonsson a Sandlund 1975; Soszyńska-Maj et al. 2016). Přizpůsobení pakomárovitých chladnému prostředí dokládá také vysoké zastoupení v rámci arktické fauny nebo výskyt rodu *Diamesa* na Himálajských ledovcích (Oliver 1968; Koshima 1985 in Giłka et al. 2013)

Někteří zástupci podčeledi Diamesinae mají znaky typické pro život v chladném prostředí, jakou je brachypterie, melanismus, menší velikost těla, ochlupení a větší končetiny (Soszyńska-Maj et al. 2016). Například u druhu *Diamesa starmachi* lze pozorovat dvě formy – brachypterní a makropterní. Zatímco makropterní dospělci se vyskytují na jaře a jsou schopni rojení, brachypterní se vyskytují v zimě a kopulují přímo na sněhové pokrývce (Giłka et al. 2013). Za typický zimního zástupce lze považovat druh *Diamesa permacer*, u kterého byl pozorován pohyb při teplotách $-4,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ a kopulace až do $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Hågvar a Østbye 1973).

Čeleď lanýžkovití (Heleomyzidae)

Lanýžkovití patří do podřádu krátkorozí (Brachycera). Nejsou jedinou čeledí podřádu se zimní aktivitou, jsou ale čeledí nejpočetnější. Hågvar a Greeve (2003) uvádějí v jižním Norsku celkem 44 druhů krátkorohých pohybujících se na sněhu – 13 z čeledi lanýžkovití (Heleomyzidae) a 10 z čeledi mrvnatkovití (Sphaeroceridae) (Hågvar 2010). Velké zastoupení lanýžkovitých je známo také z Polska (Soszyńska 2004; Soszyńska-Maj a Woźnica 2016). V rámci dlouhodobého výzkumu bylo zaznamenáno celkem 28 druhů (Soszyńska-Maj a Woźnica 2016).

Zástupci čeledi nevykazují žádná morfologická přizpůsobení k životu na sněhu, jsou však dobře adaptováni k přežití nízkých teplot (Soszyńska-Maj a Woźnica 2016). Například běžně rozšířený druh *Scoliocentra nigrinervis* má průměrný bod podchlazení $-16\text{ }^{\circ}\text{C}$ a byl

zaznamenán aktivní i při teplotě $-12,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Sømme a Østbye 1969; Nuorteva 1951 in Hågvar 2010).

Lanýžkovití mohou být v Polsku aktivní během celé zimy, období výskytu je ovšem značně závislé na místě. Zatímco v nížinách bylo nejvíce jedinců zaznamenáno od konce listopadu do prosince, v horských oblastech došlo k nárůstu až během ledna a února. Supranivální aktivita byla zaznamenána při teplotách od -5 do $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ s vrcholem mezi $-2,5$ a $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ a při vysoké vlhkosti (80–100%). Let byl pozorován při teplotách $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ a vyšších (Soszyńska-Maj a Woźnica 2016).

6.5.4 Pošvatky (Plecoptera)

Pošvatky (Plecoptera) tráví většinu života ve sladkovodním prostředí jako larvy, některé druhy ovšem dospívají během zimního období a vylézají na sněhovou pokrývku. Dospělci, kteří jsou často brachypterní, se pak mohou na sněhu nejen pohybovat, ale také kopulovat a klást vajíčka (Daly 1998; Hågvar 2010).

Ve Skandinávii patří mezi nejběžnější druhy *Taenyptherix nebulosa* a *Capnia pygmaea*, jejichž nymfy se vyvíjejí během zimy v chladné vodě. Druh *C. pygmaea* je využíván při tradičním lovu ryb. Nasbírání jedinci jsou vhozeni do vyvrtané díry v ledu, aby přilákaly ryby (Hågvar 2010).

Taenyptherix nebulosa patří s délkou těla až 15 mm k velkým druhům pošvatek. Nymfy se dostávají z vody ve chvíli, kdy se objevují praskliny a otvory v ledu, obvykle během března a dubna. K líhnutí dospělců dochází na ledu či sněhu na břehu. Nymfy zde po sobě zanechávají svlečku a putují směrem od vodního toku, nejčastěji do vzdálenosti 35 až 200 m. Během pozorování Hågvara (2010) se jedinci při teplotě $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ pohybovali rychlostí až 2,2 metru za minutu. U žádného z čerstvě vylíhlých dospělců nebyl pozorován příjem potravy, kopulace ani kladení vajíček. Při výrazném nočního ochlazení se jedinci stahují do subnivia, kde zřejmě vyčkávají nebo hledají potravu (Hågvar 2010).

7 Přehled metod a pomůcek k odchytu bezobratlých živočichů

Jak již bylo nastíněno, zástupci bezobratlých živočichů, zejména členovců, patří mezi nejúspěšnější kolonizátory planety Země. Podstata rozšíření členovců však není pouze geografická, ale především ekologická. Vzhledem k důležité roli v ekosystémech, přímo i nepřímo, ovlivňují také lidskou společnost. Mimo jiné proto se stávají stále významnějším předmětem výzkumu (Schauff 2001).

Vzhledem k variabilitě prostředí a různým životním strategiím členovců, existuje téměř neomezené množství způsobů jejich odchytu. Volba metod a nástrojů se pochopitelně odvíjí nejen od ekologických podmínek, ale také od cíle daného výzkumu. Některé metody lze úspěšně aplikovat za účelem získání přehledu o celkové diverzitě fauny v určitém prostředí, jiné jsou naopak úzce specializovány a mohou sloužit k odchytu pouze vybraných zástupců.

Tato kapitola tvoří přehled běžně používaných metod lovu. Nástroje testované v praktické části práce budou podrobněji popsány v kapitole „Metodika“.

7.1 Základní vybavení pro individuální sběr

Individuální (též ruční) sběr představuje základní metodu odchytu bezobratlých živočichů, jejíž podstatou je vyhledávání a odchyt vybraných jedinců. Použití vyhledávání a ručního sběru je vhodné zejména v případech, kdy velká pravděpodobnost, že nebudou fungovat odchyťová zařízení nebo není možný návrat na lokalitu (Niedobová a Řezníčková 2014). Pomůcky, využívané v rámci individuálního sběru ovšem nejsou vázány pouze na něj samotný a zpravidla jsou kombinovány i s dalšími metodami. Individuální sběr je vhodný také pro didaktické účely v rámci školních exkurzí (Mourek a Lišková 2010).

V některých případech může být efektivní odchyt jedinců pouhou rukou. Nicméně někteří živočichové jsou příliš rychlí, drobní, křehcí či nebezpeční na to, aby je bylo možné sbírat ručně, proto využíváme speciálních pomůcek – entomologické pinzety nebo exhaustoru (Schauff 2001; Winkler 1974).

7.1.1 Entomologická pinzeta

Entomologická pinzeta bývá zhotovena z pružného plechového pásku, je poddajná a snadno ohybatelná. Díky tomu tlak prstů působí nejvíce v místě úchopu pinzety, směrem ke konci se zmírňuje. Chycený živočich je tak držen pevně, nicméně nehrozí, že bude mechanicky poškozen. Použití entomologické pinzety je omezeno především v případě, chytáme-li drobné (a rychlé) členovce, vyskytující se ve větším množství. V takové situaci nám může lépe posloužit exhaustor (Winkler 1974).

7.1.2 Exhaustor

Exhaustor je jednoduchý nástroj fungující na principu vysavače. Základem exhaustoru je skleněný nebo plastový válec, z nějž na jedné straně vychází hadička, která se vkládá do úst. Na druhém konci je krátká skleněná trubička, kterou při použití zamíříme na sbíraného jedince. Když hadičkou prudce nasajeme vzduch, ve válci vznikne podtlak a trubička nasaje živočicha, který se nachází pod ní. Podoba exhaustoru může být různá. Existuje i varianta do které se vzduch naopak fouká – její použití je vhodné například při sběru živočichů žijících se na výkalech a hnoji nebo na zdechlinách (Winkler 1974). Novák (1969) uvádí také exhaustor podle dr. Jančaříka, který obsahuje přímo sběrnou nádobu s lihem. Tradiční vdechovací exhaustor může představovat riziko v podobě vdechnutí škodlivých látek nebo organismů (Schauff 2001). Tomu lze částečně předejít, pokud je vstup do sací trubice opatřen sítkem nebo kouskem gázy (Novák 1969).

7.2 Odchyt ve vzduchu a na vegetaci

Pro aktivní odchyt živočichů na vegetaci a ve vzduchu používáme zejména různé druhy sítí. Mezi základní patří síť motýlářská a smýkácí.

7.2.1 Motýlářská síť

Motýlářská síť slouží k přímému odchytu létajícího hmyzu. Základem konstrukce sítě je kovový rám ze silného drátu, na němž je zavěšen pytel z jemné, lehké a poloprůhledné tkaniny. Aby nedošlo k poškození jemné sítě, může být na rámu připevněna pásem silnější tkaniny (Novák 1969). Rám může být upevněn na různě dlouhé, popř. teleskopické tyče. Použití sítě není omezeno pouze na motýly, ale hodí se i na ostatní řády – především pak

na křehké a jemné zástupce létajícího hmyzu (Winkler 1974; Schauff 2001; Mourek a Lišková 2010).

7.2.2 Smýkací síť

Smýkací síť (smýkačka, smýkadlo) umožňuje sběr z porostů bylin a nízkých keřů. Na rozdíl od motýlářské sítě je její konstrukce pevnější a pytel odolnější. Ideální je pak použití pytle dvouvrstvého – vnější část je tvořena pevnou šustákovinou, vnitřní jemnou síťovinou. Jemná vnitřní síť zajišťuje, aby se hmyz neponičil, sama je však chráněna sítí pevnější (Mourek a Lišková 2010). Smýkání probíhá tak, že máváme smýkačkou na vegetaci a opisujeme „osmičky“. Hmyz chycený na rostlinstvu vyhledává sluneční světlo, ze smýkačky se tedy snaží uletět – proto je vhodné síť pohybovat, i když právě nedochází ke smýkání. Hmyz je také možné sklepat hlouběji do pytle prudkým mávnutím. Chycené jedince ze smýkačky vybíráme jednotlivě pinzetou, exhaustorem nebo jej přikládáme přímo okrajem sběrací lahvičky (Mourek a Lišková 2010; Winkler 1974). Materiál je také možné přemístit přímo do smrtičky (Schauff 2001).

7.2.3 Sklepávadlo

Sklepávadlo (sklepávač) slouží ke sběru živočichů z větších rostlin, především keřů a stromů. Na rozdíl od smýkadla umožňuje sběr hmyzu a dalších živočichů vázaných na kůru a větve, tedy nikoliv pouze na květy, listy nebo stonky (Winkler 1974). Sklepávadlo může mít podobu deštníku nebo speciální plachty. Konstrukce tzv. amerického sklepávadla je obvykle tvořena rámem ze dvou dřevěných či laminátových prutů ve tvaru písmene „X“. Mezi jejich konci je natažen obdélník bílé pevné tkaniny (Novák 1969; Schauff 2001). Sklepávání provádíme tak, že sklepávadlo podsuneme pod větve a následně do větví či kmene opakovaně udeříme tyčí nebo gumovou palicí. Úder způsobí nečekané vibrace, na které hmyz reaguje „leknutím“ – hraje mrtvého, pouští se větví a padá do sklepávadla. Za běžných okolností by tato reflexní reakce hmyzu umožnila pád do bezpečí nižších úrovní vegetace nebo na zem (Julio 2010). Sklepaný materiál následně vybíráme z plachty exhaustorem nebo pinzetou.

7.3 Sběr a extrakce půdních živočichů

Půda poskytuje prostředí k životu mnoha skupinám bezobratlých živočichů. Do metod sběru půdních živočichů jsou zařazeny také metody sběru z hrabanky, tedy vrstvy tlejícího opadaného listí a dalšího rostlinného materiálu přítomného na povrchu půdy. Na rozdíl od živočichů, které získáváme ze vzduchu či vegetace, půdní faunu obvykle nepřitahuje světlo, ale naopak se zdržuje ve tmě a vlhku (Winkler 1974). Tohoto jevu lze využít při individuálním sběru epigeické fauny pod kameny či kmeny, ale také při separaci a extrakci půdních nebo hrabankových vzorků.

7.3.1 Prosívadlo

Prosívadlo může sloužit ke sběru hmyzu a dalších členovců nejen z půdy, ale také hrabanky, tlejícího dřeva, ptačích a savčích obydlí, lišejníků, mechů, naplavenin a dalších materiálů (Schauff 2001). Prosívadlo může být zvláště vhodné pro zimní sběr hibernujících zástupců (Schauff 2001). Konstrukce prosívadla je tvořena dvěma pevnými rámy s držadlem, na nichž je upevněn plátěný zavazovatelný pytel. Ve spodním rámu se nachází síto s oky o velikosti přibližně 1×1 cm. Při prosívání nejprve uchopíme vrchní rám a na síto vložíme zpracovávaný materiál. Poté krouživými pohyby prosíváme tak, aby se vzorek na sítu točil a drobnější částice propadávaly sítím. Živočichové se nahromadí v zavázaném pytli (společně s drobnějšími částčkami vzorku), hrubý prosetý materiál vyhodíme. Obsah pytle, tzv. prosev, poté můžeme uchovat v plátěných sáčkách nebo jej přímo v terénu zpracovat. Zpracovávání probíhá tak, že prosev sypeme do bílé mělké nádoby nebo na papír či igelitovou plachtu. Větší jedince vybíráme pinzetou nebo exhaustorem (Novák 1969; Winkler 1974; Schauff 2001; Mourek a Lišková 2010). V případě zpracování v domácím prostředí je možné výběr usnadnit jeho „oživením“ – zahřátím vzorku teplotou v místnosti nebo žárovkou, popř. foukáním tabákové kouře. Z prosevu začnou vybíhat živočichové, které pochytáme pinzetou či exhaustorem (Winkler 1974). Místo prosívadla je možné také použít mělké plastové umývadlo (metoda prof. Buchara) ve kterém protřepáváme vzorek hrabanky – hrubý materiál zůstane nahoře, drobní živočichové propadnou na dno (Mourek a Lišková 2010).

Půdní a hrabankové vzorky (popř. prosev, naplaveniny, humus, sklepaný materiál včetně vegetace atd.) můžeme zpracovávat pomocí různých separátorů a extraktorů, jejichž účelem je oddělit živé zástupce od materiálu, ze kterého by byl jinak jejich sběr obtížný. Zařízení pro separaci a extrakci obvykle využívají světla, tepla či vysychání k vypuzení živočichů z materiálu (Novák 1969; Schauff 2001; Julio 2010).

7.3.2 Xeroeklektory

Xeroeklektory vypuzují živočichy ze substrátu pozvolným vysycháním. Materiál je nasypán do perforovaných nádobek, např. z drátěného pletiva. Ty jsou pak zavěšeny do rámu, kolem kterého je natažen plátěný pytel. Na dno je umístěna nádobka s vlhkými pilinami. Celé zařízení je umístěno na vzdušné místo, aby docházelo k rychlému vysychání materiálu. Hmyz hledá místo s větší vlhkostí a nakonec padá do nádoby s vlhčenými pilinami nebo hadříkem, odkud je pak vybírán (Novák 1969; Winkler 1974).

7.3.3 Fotoeklektory

Fotoeklektory (zvané též Winklerovi eklektory nebo Winkler/Moczarski eklektory¹) vypadají podobně jako xeroeklektory, ovšem místo změn vlhkosti fungují na principu oddělování světla a tmy. Pytel se vzorkem substrátu je ve tmě, naproti tomu průhledná sběrná nádoba představuje silný zdroj světla. Hmyz vylétá za světlem a hromadí se v nádobě. Fotoeklektory se tak hodí spíše na zpracování vzorků získaných smýkáním nebo sklepáváním než vzorků půdních (Novák 1969; Winkler 1974). I z půdních vzorků je ovšem možné získat například hmyz, který zde odpočívá nebo se líhne (Mourek a Lišková 2010). Výhodou zařízení je možnost fungování bez zdroje elektrického proudu a tak jeho relativně snadné použití v terénu (Schauff 2001).

7.3.4 Extraktory podle Berleseho a Tullgrena

Extraktory podle Berleseho a Tullgrena slouží zejména k získávání drobných půdních členovců, např. hmyzenek (Protura), chvostoskoků (Collembola), roztočů (Acari), stonoženek (Symphyla) a štírků (Pseudoscorpiones) (Winkler 1974; Mourek a Lišková 2010). Zařízení je tvořeno zpravidla skleněnou nálevkou, do jejíž rozšířené části je

1 Ve Vídeňské firmě Winkler byly eklektory komerčně vyráběny (Besuchet et al. 1987)

instalováno sítko s oky o průměru obvykle 2-3 mm (podle velikosti studovaných živočichů). Na síto je umístěn vzorek půdy nebo hrabanky. Vzorek v sítu je nejprve ponechán vysychat volně, po 12-48 hodinách je obvykle vysoušení urychleno zahříváním žárovkou umístěnou nad sítím (Novák 1969). Živočichové prchají před suchem a teplem do nižších vrstev vzorku, až nakonec propadávají sítkem do ústí nálevky, na jejímž konci se nachází sběrná nádoba s fixační tekutinou (Winkler 1974; Miko et al. 1993; Schauff 2001). Zpracování obvykle trvá 4-10 dní, v závislosti na výšce vrstvy a vlhkosti substrátu. V případě, že není použita zahřívací žárovka, může prosychání trvat až 21 dnů (Novák 1969). Chceme-li zachovat jedince živé, místo nádoby s fixační tekutinou lze použít misku s vlhkou sádrou (Mourek a Lišková 2010).

7.4 Odchyt pomocí pastí

Stejně jako jiných odchytových metod, i pastí existuje velké množství typů s řadou modifikací. Pasti jsou zpravidla specializovány na jednu skupinu živočichů, odpovídající na určitý stimul. Je-li tedy výzkum zaměřen na taxonomickou diverzitu určitého místa, je nutné použít pastí více najednou. Vzhledem k technické a finanční náročnosti takového řešení se dnes objevují i návrhy různých kombinací tradičních pastí. Např. Russo et al. (2011) navrhují tzv. složenou past (*composite insect trap*), kombinující Malaiseho past, intercepční letovou past a Moerickeho misku (Russo et al. 2011).

Pasti lze rozdělit do dvou kategorií – na pasti pasivní a pasti aktivní (Julio 2010; Russo et al. 2011).

a) **Pasivní pasti** (např. Malaiseho pasti, intercepční pasti, bariérové pasti, zemní pasti bez návnad atd.) jsou zcela závislé na náhodě. Umožňují tak objektivní odhad hmyzích populací, neboť jedinci nejsou pastmi přitahováni ani odpuzováni. Zásadním nedostatkem pasivních pastí je jejich neúčinnost při nízkých hustotách výskytu.

b) **Aktivní pasti** (např. návnadové zemní pasti, barevné miskové pasti, světelné pasti atd.) využívají chování hmyzu – lákají ho na chemické, potravní, světelné či barevné návnady. Aktivní pasti mohou být různě upravovány, aby došlo ke zvýšení jejich účinnosti. Mají-li sloužit k odhadu populace, je nezbytné správně určit jejich rozmístění (Julio 2010).

7.4.1 Zemní pasti

Zemní pasti jsou tradiční metodou sloužící k odchytu epigeické bezobratlé fauny, např. střevlíkovitých (Carabidae), drabčků (Staphylinidae), škvorů (Dermaptera), larev páteříčků (Cantharidae), stonožek (Chilopoda), pavouků (Araneae) a sekáčů (Opiliones) (Novák 1969). Velký význam mají zemní pasti pro zkoumání aktivity bezobratlých živočichů pod sněhem (Merriam et al. 1983).

Existuje řada variant zemních pastí, lišících se materiálem, tvarem, velikostí, konzervační tekutinou či přítomností návnad. Základní model zemní pasti se skládá z plastové či skleněné nádoby zakopané do země. Okraj nádoby musí být zarovnan s úrovní terénu, aby se o něj živočichové nezarazili (Miko et al. 1993). Past by měla být chráněna stříškou tvořenou plochým kamenem, kusem kůry nebo plastem. Stříška slouží nejen k ochraně před deštěm a sněhem, ale také před mrchožrouty či pádem malých obratlovců (Julio 2010). V současné době je používána varianta dvou kelímků. Do vnějšího, zakopaného v zemi, se vkládá vnitřní, který slouží jako samotná past. Je tak výrazně usnadněn výběr a opětovná instalaci pasti (Novák 1969).

Do pastí lze umístit návnadu, zpravidla silně aromatickou – např. kousky masa, sýra, vnitřnosti, pivo, lidské i zvířecí výkaly atd. (Novák 1969; Miko et al. 1993; Schauf 2001; Julio 2010) Při použití kombinace pastí s návnadou a bez návnady je možné sledovat vztahy jednotlivých druhů k potravě (Novák 1969).

Pasti ponechané bez fixační tekutiny mohou sloužit k odchytu živých jedinců, je však nezbytný jejich každodenní výběr. Jako fixační tekutinu lze použít např. 4% formaldehyd, ethylenglykol nebo krátkodobě nasycený roztok NaCl s přísádkem detergentu, pro snížení povrchového napětí (Novák 1969; Mourek a Lišková 2010; Julio 2010).

7.4.2 Moerickeho a jiné barevné misky

Moerickeho a další barevné misky využívají k přilákání létavého hmyzu výrazných barev, připomínajících květy. Tradiční Moerickeho pasti mají podobu plastových nebo plechových misek o průměru přibližně 20 cm, jejichž vnitřní strana je natřena jasnou žlutou barvou. Misky jsou umístěny na zem či do vykopaných prohlubní a zhruba do 1/3

naplněny netoxickou kapalinou, např. vodou nebo roztokem NaCl s přísadkou detergentu (Novák 1969; Schauff 2001). Moericke využíval žluté misky původně k odchytu mšic, záhy se však ukázalo, že je žlutá barva nejatraktivnější také pro jiné druhy hmyzu (Novák 1969; Russo et al. 2011). V současné době je však používána i řada dalších barev, např. fialová, modrá, červená nebo bílá. Například červená barva je nejatraktivnější pro některé druhy brouků (Julio 2010). Modrá pak pro některé parazitické vosy (Schauff 2001). Campbell a Hanula (2007) prováděli srovnávací výzkum efektivnosti modrých, žlutých, bílých a červených pastí v odchytu opylovačů tří lesních ekosystémů. Z hlediska absolutního počtu jedinců i z hlediska jejich diverzity se ukázali jako nejúspěšnější misky modré, které byly také určeny jako nejúspěšnější v lovu blanokřídlých (Hymenoptera) (Campbell a Hanula 2007). Pro zachycení hustoty pohybové aktivity bez zkreslení je vhodné použít naopak misek s co nejméně atraktivními barvami – např. šedou či barvami splývajícími s okolím (Heydemann 1958 in Novák 1969).

Zvýšení efektivity barevných misek je možné dosáhnout přidáním čichově atraktivních látek. Substance se umísťují do úzkých děrovaných nádobek doprostřed misky. Jako atraktanty je možné použít řadu látek, které působí na více druhů hmyzu, např. řepkový olej a destiláty z řepkového šrotu či látky proteinové povahy (hydrolyzáty kvasnic, laktalbumin, kasein apod.) (Novák 1969).

7.4.3 Intercepční (narázové) pasti

Intercepční neboli nárazové pasti jsou jednoduché a levné pasti k odchytu letícího hmyzu. Základem pasti je vertikálně umístěná průhledná bariéra, obvykle ze síťoviny, o šířce 1–2 m a výšce 1 m. Možné je však použít také rám se skleněnou či plexisklovou tabulkou. Síťovina může být v lese natažena mezi dva stromy, v otevřeném prostoru mezi upevněné tyče. Další variantou je síť umístěná mezi tři stromy, tak aby tvořila tvar písmene V. Rozšířený konec by měl být orientován ve směru proudění vzduchu a tak, aby na něj dopadlo maximální množství světla (Schauff 2001; Julio 2010). Pod bariérou jsou umístěny nádoby se smrtící tekutinou – letící hmyz narazí do bariéry a následně padá do nádoby, kde uhynie. Síť je také možné nastříkat insekticidem na bázi syntetického pyrethroidu. Hmyz tak uhynie přímo při kontaktu s bariérou (Schauff 2001). Jako smrtící

tekutinu je možné použít 50% roztok vody a nemrznoucí tekutiny na bázi ethylenglykolu s trochou benzoátu sodného (Julio 2010).

Intercepčních pastí existuje řada dalších variant. Bariéry mohou být zavěšeny například ve výškách na větvích stromů. Mezi intercepční pasti lze zařadit také Malaiseho pasti.

7.4.4 Malaiseho pasti

Malaiseho pasti patří mezi nejpoužívanější pasti určené k odchytu letícího hmyzu. Konstrukce Malaiseho pasti připomíná jednoduchý stan. Základem je vertikálně umístěná síť z monofylu, sloužící k zachytávání hmyzu, a dvě sítě tvořící bočnice. V horní části sítě přecházejí v trychtýř, na jehož ústí se nachází sběrná nádoba. Fungování pasti je založeno na jednoduchém principu – hmyz, který narazí do překážky se pohybuje směrem vzhůru. V pasti tedy prochází trychtýřem a je lapen do sběrné nádoby (Julio 2010).

Původní typ pasti byl jednosměrný, v současné době je však používána řada modifikací. Například obousměrné pasti nebo nesměrové pasti, kdy jsou nárazové plochy umístěny do kříže a nad nimi se nachází sběrný trychtýř (Schauff 2001).

7.4.5 Světelné pasti

Mezi světelné pasti řadíme metody využívající světelného zdroje k přilákání a odchytu hmyzu. Pro většinu zástupců nočního hmyzu je nejatraktivnější ultrafialová část světelného spektra, přibližně o vlnové délce mezi 350 nm a 550 nm. Nicméně citlivost na konkrétní vlnové délky se druhově liší (Steiner a Hauser 2010). Je-li v terénu k dispozici zdroj elektrické energie, jako optimální se jeví použití vysokotlakých rtuťových výbojek, UVA zářivek (tzv. černé světlo) nebo svítlen se smíšeným světlem, které mají vyšší podíl UV spektra než běžné domácí žárovky. Chybí-li silný zdroj elektrické energie, je možné použití nízkotlaké rtuťové výbojky (klasické zářivky), které je lze napájet 12V akumulátory (Schauff 2001; Steiner a Hauser 2010). Novák (1969) uvádí také možné použití acetylenových, petrolejových nebo lihových lamp jako zdroje světla. Výhodou takových lamp je nezávislost na zdroji elektrické energie, nicméně za cenu nižší efektivity z důvodů omezeného světelného spektra (Novák 1969; Steiner a Hauser 2010).

Nenáročnou metodou odchyty pomocí světla je použití bílé plachty (např. prostěradla), natažené na větvě stromů nebo mezi podpůrné kolíky. Zhruba metrová část plachty by měla pokrývat i plochu na zemi, neboť hmyz má tendence skrývat se ve stínu pod zdrojem světla (Novák 1969; Julio 2010). Hmyz je z plachty sbírán ručně pinzetou nebo motýlářskou sítí. Světelných lapáků, tedy skutečných pastí se sběrnou nádobou, existuje celá řada. Konstrukce většiny z nich však nese tři základní prvky – světelný zdroj, sběrný trychtýř a sběrnou nádobu. Mezi doplňkové komponenty patří ochrana proti dešti, dešťový odtok, fotoelektrický spínač a anestetické nebo smrtící činidlo (Steiner a Hauser 2010). Takzvaný New Jerseyký typ světelné pasti obsahuje ventilátor poháněný elektromotorem, který vhání hmyz, přilákaný světelným zdrojem, do sběrné nádoby (Schauff 2001). Podrobnější přehled konstrukčních forem světelných lapáku popisuje např. Novák (1969); Schauff (2001); Julio (2010); Steiner a Hauser (2010).

Úspěšnost světelných, ale i jiných, pastí je podmíněna řadou abiotických faktorů (Julio 2010; Steiner a Hauser 2010):

- měsíční svit snižuje atraktivitu světelného zdroje pasti
- intenzita větru ovlivňuje celkovou aktivitu hmyzu – většina druhů přestává létat ve chvíli, kdy již není kvůli síle větru schopna udržet směr letu
- silné srážky mohou snížit aktivitu zpravidla menších druhů (v podmínkách některých semiaridních nebo tropických oblasti mohou srážky aktivitu naopak stimulovat)
- v mírném podnebí může vlhkost vzduchu stimulovat aktivitu hmyzu, pokud není spojena s poklesem teploty
- pokles tlaku vzduchu může, podle některých studií, stimulovat aktivitu hmyzu

7.4.6 Lepové pasti

Lepové pasti jsou zpravidla tvořeny lepivým objektem umístěným na větvi či jiném vhodném místě. Základem pasti může být deska, páska, skleněná tabulka, síťovina či

válec. Past je často natřena žlutou barvou, aby lákala opylující hmyz. Jedinec, který na pasti přistane, se sám není schopen odlepit. Lepovou látku lze rozpustit pouze vhodným rozpouštědlem – obvykle toluenem, xylenem, ethylacetátem nebo jejich kombinací. Následně může být chycený jedinec očištěn 2-ethoxyethanolem a xylenem. Lepové pasti nelze kvůli poškození použít k odchytu motýlů. Řada lepových pastí je komerčně vyráběna, některé jsou doplněné také atraktanty (Schauff 2001).

7.4.7 Metoda umělého útočiště

Mnoho zástupců členovců vyhledává útočiště pod kameny, hnijícím dřevem nebo v kůře stromů. Tato přírodní útočiště můžeme napodobit pomocí kusů dřeva, kartonu nebo i pomocí složitějších pastí (Duffey 1969; Hawkins et al. 1998; Schauff 2001).

Jednou z variant použití umělého útočiště jako pasti, je napodobení kůry na kmenech stromů. Pasti mohou být tvořeny pruhem vlnkovaného kartonu, bublinkové polyethylenové folie nebo plátna připevněného ke kmeni. Pro odchyt pavoukovců hledajících úkryt v průběhu podzimu a zimy byly úspěšně použity tzv. kartonové kapsy tvořené přehnutým vlnkovaným kartonem uvázaným kolem kmene stromu (Machač a Tuf 2016). Možné je ovšem také použití jednoduchého pásu vlnkovaného kartonu, umístěného na hladké kůře stromu (Duffey 1969). Isaia et al. (2006) provedl celoroční srovnání efektivity vlnkovaného kartonu a bublinkové polyethylenové fólie v odchytu stromových pavoukovců. Z hlediska množství i diverzity chycených jedinců se ukázala bublinkové fólie jako úspěšnější (Isaia et al. 2006). Přesto zůstává vlnkovaný karton tradičně používanou metodou.

Další variantou umělého útočiště na kmenech stromů je použití pásu pytloviny uvázané kolem stromu. Této techniky lze použít také při kontrole některých škůdců, např. bekyně velkohlavé (*Lymantria dispar*), jejíž larvy hledají pod pytlavinou útočiště (Schauff 2001).

PRAKTICKÁ ČÁST

Cílem praktické části práce je ověření použitelnosti vybraných odchyťových metod bezobratlých živočichů v prostředí běžně dostupném učitelům a žákům. Záměrem není odchyť pouze sněžné fauny (viz kap. 6.2 Systematický přehled sněžné fauny), ale všech bezobratlých živočichů, které lze během zimy chytit. Výzkum by měl zodpovědět dvě stěžejní otázky:

Jsou vybrané metody sběru efektivní v průběhu chladného období roku?

Jaká je diverzita živočichů odchycených za pomoci vybraných typů pastí v daném prostředí?

8 Metodika

Pro praktické vyzkoušení odchyty bezobratlých živočichů v průběhu zimy bylo vybráno pět různých odchyťových metod. Cílem testování bylo především vytvoření přehledu bezobratlých živočichů, které lze během zimy odchytit a ověření použitelnosti metod pro potenciální použití v rukou žáků či učitelů. Od toho se odvíjel výběr nástrojů i volba prostředí, kde byly použity.

Výběr použitých odchyťových metod se opíral o několik základních požadavků:

- jednoduchá a bezpečná aplikace, aby mohly být metody samostatně použity v rámci výuky
- jednoduchá a levná konstrukce pastí a pomůcek
- vhodnost použití metod v zimním prostředí – z literárního přehledu je zřejmé, že některé metody jsou pro použití v zimě nevhodné

8.1 Přehled testovaných metod

8.1.1 Zemní pasti

Vzhledem k dlouhodobému umístění a opakovanému vyjímání pastí byla zvolena konstrukce ze dvou kelímků od jogurtu o objemu 400 ml a průměru hrdla cca 95 mm. Vnější kelímek byl zakopán v zemi a do něj byl umístěn vnitřní kelímek naplněný do 2/3 fixační tekutinou. Past kryla stříška z průsvitného plastu, vyrobená z misky pod květináč, na níž byli přilepeny tavnou pistolí tři dřevěné kolíky o délce 5 cm jako nožky. Jako fixační tekutina byl použit roztok NaCl (kuchyňská sůl) s kapkou detergentního přípravku na nádobí. Roztok slouží nejen k fixaci chycených živočichů, ale také brání zmrznutí celé pasti a následnému poškození pasti i vzorků.

Ke snadnému výběru vzorků z roztoku posloužilo čajové sítko a plastová nálevka. Po vyjmutí vnitřního kelímku byl jeho obsah vylit přes sítko. Sítko bylo následně vloženo vnitřní stranou dolů do horní části nálevky ústící do uzavíratelné nádoby. Přes sítko byl

poté prolit denaturovaný líh, čímž došlo k odplavení obsahu sítka společně s lihem do sběrné nádoby.

8.1.2 Odběr hrabanky a extrakce v přístroji podle Berlese a Tullgrena

Na každém stanovišti byla pomocí zahradnické lopatky odebrána hrabanka se svrchní vrstvou půdy zhruba do hloubky přibližně 2 cm. Každý vzorek o objemu 250 ml byl poté extrahován v extraktoru podle Berlese a Tullgrena („T-B extrakce“).

8.1.3 Sklepávání

Ke sklepávání bylo použito komerčně dostupné skládací sklepávadlo amerického typu s bílým plátnem o rozměrech 1×1 m. K úderům do větví stromů sloužila teleskopická laminátová hůl o délce 100 cm. Sklepaní jedinci byli sbíráni pomocí standardní entomologické pinzety a fixováni v denaturovaném lihu v uzavíratelných nádobkách (např. centrifugačních zkumavkách, prefabrikátech PET lahví, atd).

8.1.4 Metoda umělého útočiště – kmenové pásy

Metoda umělého útočiště se jeví jako didakticky vhodná vzhledem k tomu, že pomocí ní lze chytat živočichy nedestruktivně. Zároveň jsou chyceny především druhy, které past přirozeně vyhledávají jako úkryt.

Kmenové pásy byly vyrobeny z pásu vlnkovaného kartonu o šířce přibližně 20 cm. Každý pás byl umístěn ve výšce zhruba 150 cm kolem kmene zvoleného stromu. K uchycení posloužil tenký provázek uvázaný kolem pásu.

8.1.5 Metoda umělého útočiště – kartonové destičky

Pasti v podobě kartonových destiček byly vyrobeny vyříznutím čtverců o rozměrech cca 25×25 cm z běžné krabice. Na jednotlivých stanovištích byla odhrabána svrchní vrstva vegetace a opadanky, následně byly na místo umístěny destičky. Pro dostatečný kontakt se zemí a ochranu před větrem jistily každou past kameny nasbírané v místě jejího umístění.

8.2 Volba místa a času

Každá ze zvolených metod byla použita na pěti stanovištích v různých částech vnější expozice botanické zahrady Přírodovědecké fakulty UK (Na Slupi 433/16, Praha 2). Prostředí botanické zahrady bylo zvoleno hned z několika důvodů. Jedná se o dostupnou lokalitu uprostřed města. Může tedy nést některé společné znaky se školními pozemky, na kterých by mohly být vybrané metody používány v praxi. Zároveň však poskytuje značně různorodé prostředí s vysokou diverzitou vegetace. V neposlední řadě se jedná o místo, kde jsou umístěné pasti chráněny před psy a další zvěří a do určité míry také před nenechavými lidmi.

Sběr materiálu a výběr pastí probíhal v intervalu dvou týdnů. První návštěva se konala 7. prosince 2016, kdy byly na jednotlivé lokality umístěny pasti a bylo provedeno sklepávání a odběr hrabanky. Vyjma sklepávání a T-B extrakce jsou tedy vzorky za první období dostupné až od prvního výběru pastí 21.12.2016. Poslední sběr vzorků společně s likvidací pastí proběhl 1.3.2017 (viz graf 1, str. 59).

8.2.1 Přehled lokalit

Pro umístění pastí bylo vybráno 5 reprezentativní lokalit, jejichž období lze nalézt také v jiných parcích či zahradách.

- 1) Odpočinkové refugium – sklepávání z tisu; zemní past umístěna pod tisem; destička uložena za tisem vedle malé jedle v břechťanu; odběr hrabanky pod japonským javorem; kmenový pás na japonském javoru
- 2) Nad expozicí vodních rostlin – sklepávání ze skalníku; zemní past pod ptačím zobem a korunou dubu; odběr hrabanky i kartonová destička vedle zemní pasti; kmenový pás na vzrostlém listnatém stromu s výrazně strukturovanou borkou
- 3) U studentského skleníku – sklepávání z okrasného dubu; zemní past nad místem kde se kope a smíchává zemina; odběr hrabanky a kartonová destička taktéž; kmenový pás na listnatém stromě s výraznou strukturou borky

4) Německá skalka – skleпávání z hustých větví jedle; zemní past ve skalce cca 1 m západně od jedle; odběr hrabanky přímo pod jedlí; kartonová destička ve skalce; kmenový pás na bříze poblíž

5) Cesmína u jezírka – skleпávání z cesmíny; zemní past i kartonová destička přímo pod cesmínou; odběr hrabanky taktěž; kmenový pás na japonské jedli vedle

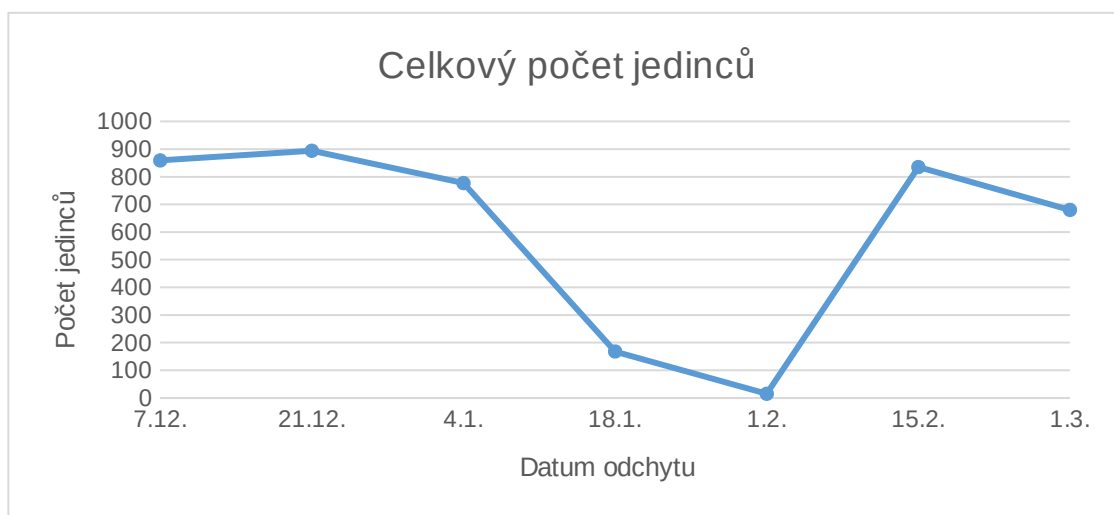
8.3 Určování a zpracování vzorků

Vzorky byly zpracovány a určeny s pomocí binokulární lupy a publikací Buchara et al. (1995), Hudce et al. (2007) a Horsáka et al. (2013). Pokud se v jednom vzorku nacházelo více než sto jedinců z jedné skupiny živočichů (roztoči a chvostoskoci), byl jejich počet zaokrouhlen právě na sto.

9 Výsledky

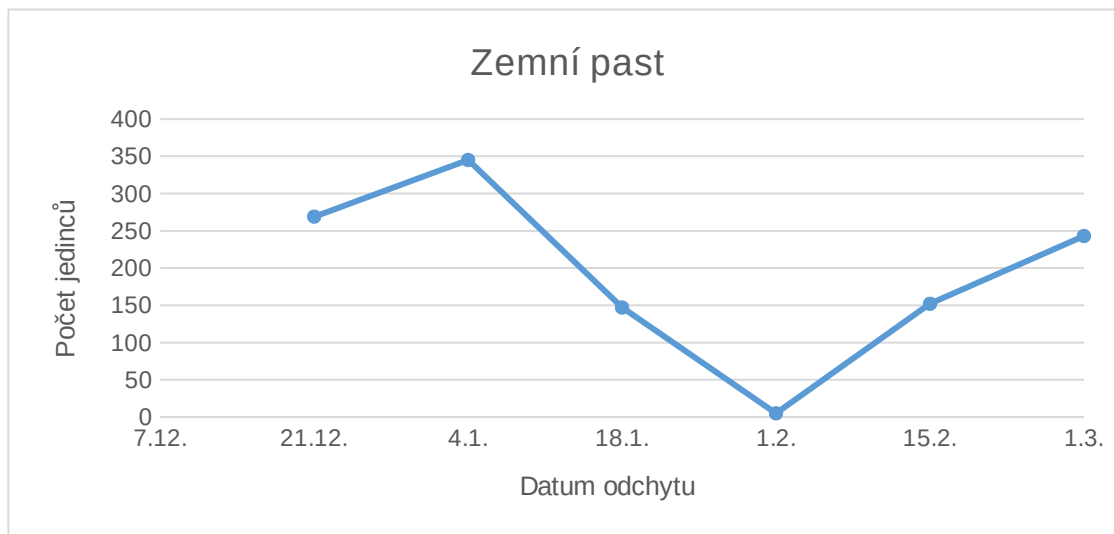
9.1 Změny v počtu odchycených jedinců v průběhu zimy

Celkem bylo v období 7. 12. 2016 až 1. 3. 2017 odchyceno více než 4000 jedinců bezobratlých živočichů náležících do 18 řádů. Nejvyšší množství zástupců bylo odloveno na začátku a na konci sledovaného období (**Graf 1**). Nicméně propad v některých termínech (18. 1. a 1. 2.) byl zapříčiněn zejména nemožností odběru vzorků samotných, nikoliv absencí živočichů ve vzorku.



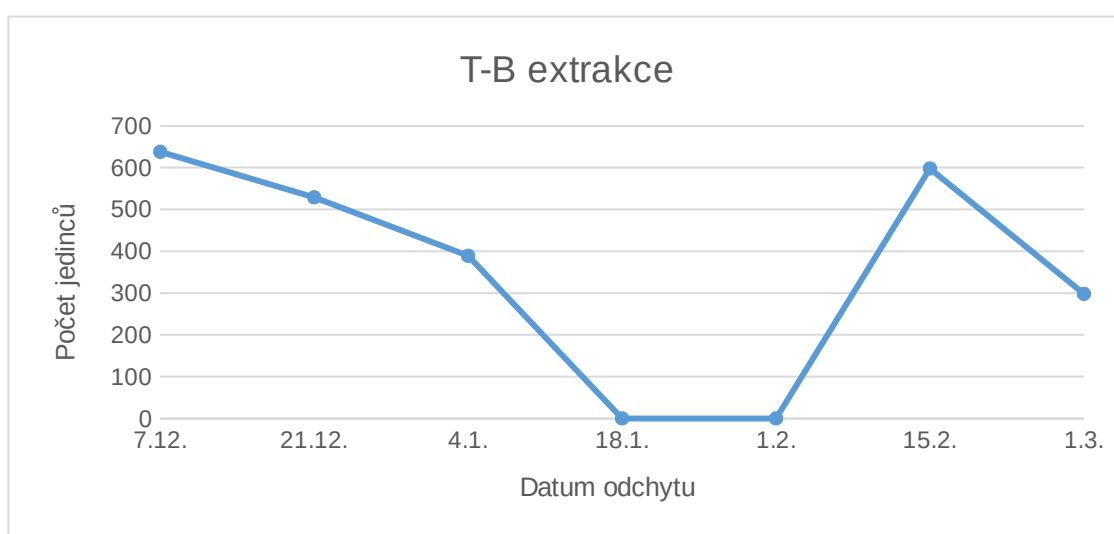
Graf 1: Vývoj celkového množství odchycených jedinců v průběhu období

Množství jedinců odchycených pomocí **zemních pastí** mezi prvním a druhým odběrem mírně rostlo (**Graf 2**). V průběhu ledna však došlo k výraznému poklesu teplot spojenému se sněhovými srážkami, které ovlivnily funkčnost pastí. V období mezi 18. 1. a 1. 2. došlo k poškození některých pastí. Sníh a mráz zapříčinil pád několika krycích stříšek, které následně znemožnily vstup do pastí. Výrazný propad k 1. 2. tedy nelze považovat pouze za důsledek nízké aktivity živočichů.



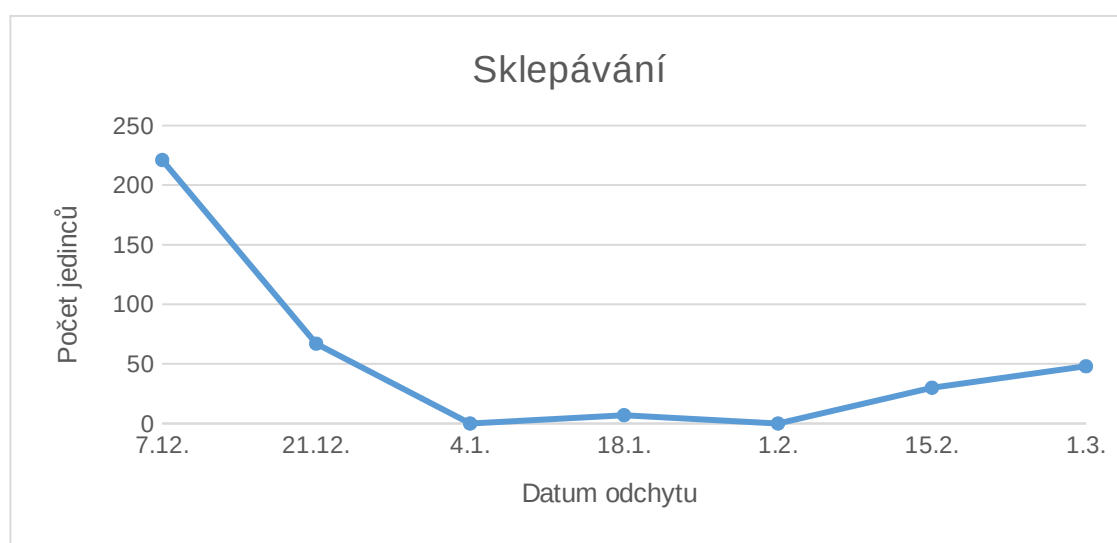
Graf 2: Vývoj počtu jedinců odchycených zemními pastmi

Na rozdíl od jiných metod při **odběru hrabanky** a následné **T-B extrakci** nejsou získávání především živočichové, kteří jsou v danou chvíli aktivní. K jejich přechodu z dormatního stavu k aktivitě může docházet až v průběhu extrakce. Přesto mezi 7. 12. 2016 a 4. 1. 2017 došlo k postupnému poklesu v množství jedinců (**Graf 3**). Odběr hrabankových vzorků nebyl proveden 18. 1. a 1. 2., kdy z důvodu dlouhodobých mrazů promrzla svrchní vrstva půdy. Odebrání materiálu tak nebylo fyzicky možné.



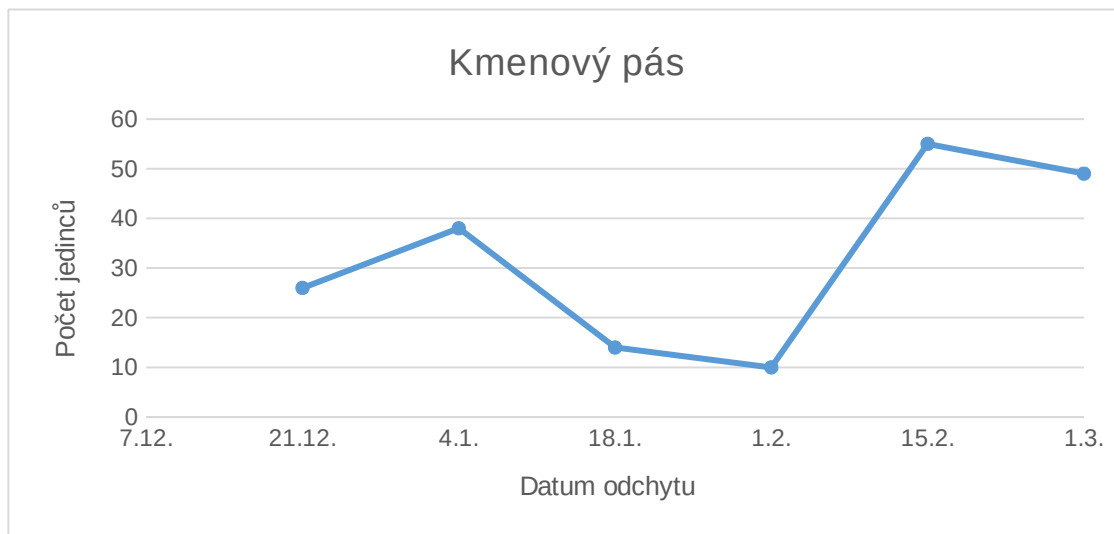
Graf 3: Vývoj počtu odchycených jedinců získaných z hrabanky v T-B extraktoru

Pomocí **sklepávání** bylo nejvíce jedinců odchyceno v prvním odběrovém termínu 7. 12. a ani po vzestupu teplot na konci sledovaného období (1. 3.) nebylo dosaženo takové úspěšnosti (**Graf 4**). Sklepávání bylo z důvodů nepříznivého počasí vynecháno v termínech 4. 1. a 1. 2.. Překážkami pro použití sklepaní byly zejména sněhové a dešťové srážky a přítomnost velkého množství vody na vegetaci. Při sklepaní by došlo k promáčení nástrojů i případných vzorků, zároveň by sníh značně zkomplikoval výběr vzorků ze sklepadla a křehké členovce poničil.



Graf 4: Vývoj počtu jedinců odchycených metodou sklepaní

V případě metody **kmenových pásů** (**Graf 5**) nedocházelo k výpadkům vlivem počasí, pouze 1. 3. byla jedna past nalezena na zemi a zcela poškozena.



Graf 5: Vývoj počtu jedinců odchycených metodou kmenových pásů

Metoda **kartonových destiček** přinášela značně různorodé výsledky (**Graf 6**). V prvním období se pod pastmi nakumulovala vlhkost a v obdobím následujícím zde došlo k šíření plísní. Při poklesu teplot v první polovině ledna se na spodní straně destiček vytvořila vrstva ledu. Výrazný nárůst nicméně nastal na konci sledovaného období, zejména díky velkému množství stejnonožců.



Graf 6: Vývoj počtu jedinců odchycených metodou kartonových destiček

9.2 Taxonomická diverzita u jednotlivých odchytových metod

Celkem byli získáni zástupci 18 řádů bezobratlých živočichů. Distribuce řádů do jisté míry odpovídá zaměření použitých metod (**Tabulka 1**). V případě sběru živočichů vázaných na vegetaci pomocí sklepávání a kmenových pásů bylo odchyceno 7 shodných řádů. Metody zaměřené na půdní a epigeickou faunu byly zdrojem všech 18 řádů. U kartonových destiček byla diverzita nejnižší a zastoupení se nijak nelišilo od zbylých dvou metod.

Tabulka 1: Řády bezobratlých živočichů získané jednotlivými metodami

Řád	Zemní past	T-B extrakce	Sklepávání	Kmenový pás	Kartonová destička
plicnatí (Pulmonata)	x	x	.	.	x
žížaly (Opisthopora)	x
pavouci (Araneae)	x	x	x	x	x
roztoči (Acari)	x	x	x	x	x
sekáči (Opiliones)	x	x	.	.	.
chlupule (Polyxenida)	x	x	.	.	.
plochule (Polydesmida)	x	x	.	.	x
stonožky (řád Geophilomorpha)	.	x	.	.	.
stejnonožci (Isopoda)	x	x	.	.	x
chvostoskoci (Collembola)	x	x	x	x	x
vidličnatky (Diplura)	.	x	.	.	.
pisivky (Psocoptera)	x	x	x	x	.
polokřídlí (Hemiptera)	x	x	x	x	x
třásnokřídlí (Thysanoptera)	x	x	.	.	.
blanokřídlí (Hymenoptera)	x	x	.	.	.
brouci (Coleoptera)	x	x	x	x	.
dvoukřídlí (Diptera)	x	x	x	x	.
motýli (Lepidoptera)	x	x	.	.	.

V případě řádů brouků (Coleoptera) a dvoukřídlých (Diptera) byly v zemních pastech a T-B extrakci nalezeny larvy i dospělci. U třásnokřídlých (Thysanoptera) dospělci zcela chyběli.

Tabulka 2: Diverzita řádů na jednotlivých lokalitách

Lokalita/Metoda	Počet přítomných řádů		
Lokalita 1		Lokalita 4	
zemní past	10	zemní past	7
T-B extrakce	10	T-B extrakce	12
sklepávání	6	sklepávání	7
kmenový pás	2	kmenový pás	4
kartonová destička	3	kartonová destička	2
Lokalita 2		Lokalita 5	
zemní past	7	zemní past	11
T-B extrakce	11	T-B extrakce	13
sklepávání	5	sklepávání	5
kmenový pás	4	kmenový pás	4
kartonová destička	0	kartonová destička	4
Lokalita 3			
zemní past	11		
T-B extrakce	11		
sklepávání	3		
kmenový pás	5		
kartonová destička	3		

Rozdíly v diverzitě odchycených živočichů na různých stanovištích shrnuje **Tabulka 2**. Celkově nejvyšší diverzita byla zaznamenána na stanovišti číslo 5 (Cesmína u jezírka), s dominujícími vzorky z T-B extrakce hrabanky (13 řádů) a kartonové destičky (4 řady). Zcela neúspěšné byly kartonové destičky na stanovišti číslo 2 (Nad expozicí vodních rostlin).

9.3 Přehled a charakteristika vybraných odlovených zástupců

Přes přítomnost sněhové pokrývky v období mezi 18. 1. a 1. 2. nebyli odloveni žádní zástupci sněžné fauny, tedy živočichové jejichž aktivitu je možné pozorovat na sněhové pokrývce a nesou některé typické znaky, např. brachypterii (viz kap. 6.2 Systematický přehled sněžné fauny).

Následující přehled představuje stručnou charakteristiku vybraných skupin odchycených živočichů. K vypracování byly použity publikace Buchara et al. (1995), Pokorného a Šifnera (2004), Hudce et al. (2007) a Horsáka et al. (2013).

Plži (Gastropoda) – hlava vždy vyvinuta; tělo zatažitelné do nepárové ulity (může být zcela redukována); suchozemští i sladkovodní

- plzák hajní (*Arion silvaticus*) – drobný (do 40 mm) a v klidu relativně plochý plzák; zcela redukovaná ulita; dýchací otvor na přední straně štítu; hřbetní kýl chybí; typické zbarvení – šedavý hřbet, tmavé pruhy na bocích ostře oddělující vysoké a světlé boky; výskyt v opadance vlhkých lesů

Roztoči (Acari) – většinou drobní (0,5–10 mm); hranice mezi zadečkem a hlavohrudí nezřetelná; dospělci mají obvykle čtyři páry nohou, larvy šestinohé, nymfy osminohé; mohou se vyskytovat ve vodě, půdě nebo na rostlinách a tělech živočichů (patří mezi ně škůdci a cizopasníci, ale také užiteční predátoři a saprofágové)

- pancířníci (Oribatei) – velmi malí (na půdě a vegetaci působí jen jako pohybující se tečky); tělo kryto mocným tmavým krunýřem, v nebezpečí pod něj mohou ukrýt i končetiny
- sametka rudá (*Trombidium holosericeum*) – velká (až 4 mm) výrazně zbarvená (červená–hnědočervená), ochlupení připomínající samet; larvy parazitují na hmyzu, dravé nymfy a dospělci se pohybují na povrchu půdy a na vegetaci

Pavouci (Araneida) – tělo členěno na hlavohrud' a zadeček připojený tenkou stopkou; hlavohrud' nese 3–4 páry očí a dále z ní vyrůstá 6 párů končetin: 1. pár dvoučlankový s jedovými žlázami na konci (chelicery), 2. pár makadla (pedipalpy), u samců nese váčkovité kopulační ústrojí, 2.–6. pár končetiny kráčivé; pavouci jsou draví – jejich potravu tvoří především členovci, trávení je mimotělní

Sekáči (Opiliones) – pouze 1 pár očí; zadeček článkovaný a celou šíří připojený k hlavohrudí; tříčlankované chelicery ve tvaru klepítek, makadla výrazně kratší než nohy, kráčivé končetiny často velmi dlouhé; potrava především živočišná – hmyz, někdy i drobní měkkýši

Mnohonožky (Diplopoda) – malí až středně velcí bezobratlí; hlava s krátkými tykadly, kusadly a čelistmi srostlými v destičku zvanou gnathochilarium; velký počet tělních článků, 1. článek trupu bez končetin, 2.–4. s 1 párem, další zdvojené – na každém 2 páry nohou, 2 páry průduchů vzdušnic, uvnitř 2 páry nervových ganglií; končetiny jsou drobné a

umístěné na břišní straně; samci mohou mít některé nožky přeměny v kopulační; samice kladou vajíčka do země; larvy jsou šestinohé; živí se rostlinnými zbytky

- chlupule podkorní (*Polyxenus lagurus*) – drobná (do 3 mm); měkké tělo pokryté řadami svazečků chloupků; zbarvení většinou bělošedé; žije pod kůrou stromů, pod kameny, v mechu, v opadance; živí se drobnými řasami
- plochule křehká (*Polydesmus complanatus*) – dorůstá 15–23 mm; zbarvení okrové až světle hnědé; dospělci mají tělo s 20 články s postranními „křídélky“ (rozšířenými hřbetními okraji); žije v opadance

Stonožky (Chilopoda) – zploštělé a protáhlé tělo se dělí pouze na hlavu a trup; žluté, okrové nebo hnědé zbarvení; na hlavě 1 pár dlouhých tykadel, kusadla a 2 páry čelistí; 1. pár nohou tvoří mohutné tzv. kusadlové nožky, sloužící k příjmu potravy; tělní články s 1 párem nohou, poslední pár větší – tzv. vlečné nohy, se smyslovou funkcí; z vajíček se líhnou jedinci s kompletním počtem článků; vyskytují se ve vlhku (např. svrchní vrstvě půdy, pod kůrou); jsou dravé, živí se jinými bezobratlými

- zemnivkovití (Geophilidae) – poměrně malá hlava; bazální části čelistí 2. páru srostlé; zbarvení bleděžluté

Stejnonožci (Isopoda) – tělo obvykle shora zploštělé, 1–2 páry tykadel (1. zakrnělý); tělní články kryty stříškovitými štítky (tergity); na hrudních člancích končetiny kráčivé (7 párů), zadečkové články mohou splývat a nesou ploché končetiny k dýchání; samice nosí na hrudi vajíčka

Chvostoskoci (Collembola) – drobní (do 10 mm), málo sklerotizovaní, někdy pigmentovaní s chloupky nebo šupinami; na hlavě krátká tykadla, oči často chybí; charakteristický skákací aparát (furka) na spodní straně zadečku; většinou detritofágní, popř. herbivorní; výskyt ve vlhkém prostředí, zejména v půdě

- srostločlenky (Symphyleona) – hrud' a čtyři články zadečku srostlé; tykadla delší než hlava

- volnočlenky (Arthropleona) – tělní články volné

Vidličnatky (Diplura) – protáhlé tělo do 10 mm, bílé nebo žluté zbarvení; hlava s mnohočlánkovánými tykadly a kousacím ústním ústrojím, bez očí; na hrudi tři páry nohou; zadeček buď s párem dlouhých článkovaných přívěšků (štětinatky) nebo žlutě zbarvenými klíšťkami (škvorovky)

- štětinatky (Campodeina) – do 5 mm; vlhkomilné – žijí v humózní půdě, pod listím a kůrou pařezů; detritofágní

Následující skupiny **křísi** (Cicadomorpha), **mšicosaví** (Sternorrhyncha) a **ploštice** (Heteroptera) patří do společného řádu **polokřídlí** (Hemiptera).

Křísi (Cicadomorpha) – délka 2–85 mm; sklerotizovaná hlava s bodavě sacím ústním ústrojím; tykadla od 3. článku štětinovitá; křídla v klidu typicky střechovitě složena nad zadečkem; dospělci i larvy sají rostlinně šťávy

Mšicosaví (Sternorrhyncha) – malé (0,2–10 mm), často málo sklerotizované druhy; dlouhé bodavě sací ústní ústrojí – ústí až za předními kyčlemi; křídla obvykle skládána střechovitě, někdy zkrácená či chybějící; fytofágní – častí škůdci a přenašeči chorob rostlin

- Mery (Psylloidea) – délka 1,5–5 mm; tykadla dlouhá 8–10 článků a zakončená dvěma štětinkami; nohy krátké, stehna 3. párou mírně ztlustlá, umožňují skákání; dobře vyvinutá křídla; vázány na rostliny, mohou tvořit hálky; často způsobují škody na ovocných stromech
- Mšice (Aphidoidea) – délka 0,2–8 mm; tykadla 3–6 článková; křídla (pokud přítomna) blanitá s jednoduchou žilnatinou, zadní pár výrazně menší; chodila se dvěma štětinkami; na 5.–6. článku zadečku časté párové výběžky (sifunkuly); často složité vývojové cykly a sezónními polymorfismy samic s křídlatými a bezkřídlymi morfami; škůdci rostlin – sají šťávy, vylučují sliny do rostlinných pletiv, přenášejí virózy a produkují medovici (tu mohou konzumovat mravenci, kteří jako protislužbu v mutualistickém vztahu ochraňují mšice před predátory)

Ploštice (Heteroptera) – délka těla 0,8–42 mm (u chycených jen do cca 5 mm); ústní ústrojí bodavě sací; 1. pár křídel u původních ploštic homogenní, kožovitý, u odvozených skupin přeměněn na polokrovky (přední část je sklerotizovaná a pigmentovaná, zadní část blanitá), 2. pár blanitý; křídla mohou i chybět; larvy i dospělci mají pachové žlázy; žijí většinou na rostlinách, mnoho dravých, část přizpůsobena sání krve obratlovců

Pisivky (Psocoptera) – malé (1–6 mm); primárně křídlaté (křídla průhledná, v klidu střechovitě složená nad zadečkem, mohou zcela chybět); ústní ústrojí s mohutnými kusadly a velkým horním pyskem; zbarvené od téměř nepigmentovaných po žlutavé či hnědavé; žijí na stromech a křovinách, v hrabance, ve hnízdech ptáků i savců, některé druhy synantropní (možní škůdci)

Blanokřídli (Hymenoptera) – délka 0,1–40 mm; kousací ústní ústrojí, někdy uzpůsobeno k lízání či sání; výrazná tykadla s prodlouženým 1. článkem; dva páry blanitých křídel, v klidu složená nad tělem (jen u vos podél); kladélko samic někdy přeměněno v žihadlo; značně variabilní adaptace na způsob života i potravu

- mravenci (Formicidae) – silně sklerotizované tělo; stopka mezi hrudí a zadečkem 1–2 článková; sociálně žijící, polymorfní – pohlavní samci a samice (většinou okřídlení) a bezkřídle nepohlavní dělnice, někdy bojovnice

Brouci (Coleoptera) – délka těla i tvar značně variabilní (0,5–90 mm; odchycení jen do cca 5 mm); kousací ústní ústrojí; 1. pár křídel tvoří krovky, které kryjí 2. blanitý pár (a často i zbytek těla); předohruď bývá výrazně sklerotizovaná; larvy mají většinou 3 páry nohou (mohou být zakrnělé), hlava s patrným ú.ú. odlišena od těla; potravně různorodí, larvy často konzumují jiný typ potravy než dospělci

- drabčíkovití (Staphylinidae) – protáhlé tělo; většinou silně zkrácené krovky (pokrývají jen cca $\frac{1}{4}$ zadečku), díky tomu značně pohybliví; dospělci i larvy většinou dravci – některé larvy konzumují larvy dvoukřídлых; vyskytují se na zemi, pod kameny, v organickém materiálu i mraveništích a hnízdech savců

- střevlíkovití (Carabidae) – délka těla 1,7–40 mm; dospělci i larvy značně pohybliví, létají však zřídka; většina aktivní za soumraku a v noci; masožraví, výjimečně býložraví – často predátoři členovců, kroužkovců a měkkýšů
- pírníkovití (Ptiliidae) – velmi malí (většinou do 1 mm); křídla 2. páru peříčkovitá; relativně veliká vajíčka (cca ½ velikosti dospělého) snáší po jednom; vyskytují se v rozkládajícím organickém materiálu, někdy v mraveništích

Dvoukřídlí (Diptera) – délka těla 0,8–28 mm; tvarově i barevně variabilní; 1. pár křídel zpravidla dobře vyvinut, 2. pár přeměněn v kyvadélka; larvy beznohé, s více či méně vyvinutou hlavovou kapsulí, popř. bez ní; kukla mumiová nebo volná, uzavřená v soudečkovitém pupariu; konzumují rostlinné nebo živočišné tekuté látky a produkty živých i mrtvých tkání; patří mezi ně řada parazitů obratlovců i bezobratlých, škůdců a přenašečů chorob

- bráněnkovití (Stratiomyidae) – dospělci často pestře nebo kovově lesklí; některé druhy na hrudním štítu 2–6 trnů; živí se pylem a nektarem na květech; larvy se vyvíjejí většinou v půdě nebo ve vodě, vzácně v mraveništích; larvy zpevněné CaCO_3 , mají na konci těla typický trn
- tiplicovití (Tipulidae) – nápadně štíhlé tělo, dlouhá křídla a dlouhé a snadno odlomitelné končetiny; tykadla dlouhá štětinovitá, pilovitá či hřebenitá; ústní ústrojí přizpůsobeno k olizování k tekutin; larvy šedavé nebo šedohnědé, vyvíjejí se v půdě, bahně nebo hniјícím dřevě

10 Diskuse

Hodnocení změn v počtu jedinců i taxonů odchycených v průběhu sledovaného období je nutné brát s rezervou. Velké rozdíly jsou dány komplikacemi s funkčností některých způsobů odchyty, jak již bylo zmíněno mezi výsledky a bude podrobněji rozebráno níže. V rámci výsledků praktického ověření odchytových metod vyvstalo také několik faktorů, které by mohly mít vliv na použití metod v rámci výuky. Na jedné straně je podstatná samotná funkčnost metod a případné komplikace dané podmínkami zimního prostředí. Na straně druhé je to kvalita odchycených vzorků, které ani přes vysokou diverzitu nemusí být pro potřeby výuky vhodné.

Mezi metodami lze zaznamenat podobnosti v diverzitě odlovených živočichů v případě zaměření na podobné prostředí (např. půda nebo kůra stromů), nicméně jednotlivé metody jsou různě zasaženy vlivy zimního prostředí.

V případě zemních pastí lze odlovit široké spektrum epigeické fauny, zároveň je možný odchyt živočichů aktivních v subniviu (což se v malé míře podařilo v období 18.1. až 1.2., kdy byla přítomna sněhová pokrývka). Ovšem i přes ochranu v podobě stříšek může dojít k zanesení vstupu do pastí sněhem či opadem. Vzorek v pasti může být do jisté míry znehodnocen i samotným obsahem. Pokud do pasti spadne plž, vytvoří z roztoku NaCl vazkou tekutinu, ze které se ostatní materiál hůře vybírá, samotný plž je pak scvrklý a pro případnou demonstraci morfologie nepoužitelný. Zemní pasti jsou tradiční metodou zkoumání zimní fauny subnivia, přinášející široké spektrum živočichů (Merriam et al. 1983). Pro potřeby výuky je však nezbytné zohlednit, že se jedná o metodu neselektivní, pomocí níž může být odloveno mnohem více jedinců než je potřeba. Zároveň jsou živočichové v případě použití roztoku NaCl vždy usmrceni a promáčení a musejí být nadále uchováváni v lihu nebo jiné fixační tekutině.

V extrahovaných hrabankových vzorcích jsou z hlediska diverzity zastoupeny podobné skupiny živočichů jako u zemních pastí. Odběr vzorků může být omezen pouze promrznutím půdy a hrabanky, které nastává po delším působení teplot nižších než 0 °C. Míra promrznutí je ovlivněna, mimo jiné, přítomností sněhové pokrývky, která působí jako

izolace bránící úniku tepla (Pokladníková et al. 2005). T-B extrakce hrabankových vzorků je tedy poměrně spolehlivou metodou s možností získání velkého množství jedinců. Jako zásadní úskalí se ovšem jeví velmi malá velikost živočichů, pro jejichž zpracování je nezbytné použití binokulární lupy či mikroskopu. Především binokulární lupy se však na školách najdou jen zřídka.

Kartonové destičky poskytují menší diverzitu epigeické fauny i nižší spolehlivost, zejména kvůli promrznutí (viz kap. 9.1 Změny v počtu odchycených jedinců v průběhu zimy). Z hlediska výukových potřeb však mohou přinášet některé výhody. Živočichy není nutné smrtit, popř. lze smrtit pouze vybrané jedince. Je možné prezentovat přirozené chování a názorně ukázat jak živočichové vyhledávají útočiště. Také se pod destičkami mohou nacházet relativně velcí živočichové (plži, větší stejnonožci), na kterých lze prezentovat morfologii. Riziko může představovat vzhled destiček, jsou-li umístěny na veřejně přístupném místě, kde by je někdo mohl vyhodit jakožto odpad. V takovém případě je vhodné destičky opatřit popiskou s informacemi o jejich původu a účelu.

Metody vázané na vegetaci přinášely z hlediska diverzity totožné výsledky. Použití kmenových pásů i sklepávání nemusí být pro odchycené živočichy letální a je možné vybrat pouze jedince, které chceme využít. Sklepáváním lze získat živočichy okamžitě, během jedné návštěvy lokality (např. v rámci exkurze), je však více vázáno na aktuální teplotu a srážky. S poklesem teplot pravděpodobnost výskytu živočichů na vegetaci klesá, srážky zároveň znemožňují sklepávání z důvodů promáčení sklepačadla i vzorků. Naproti tomu kmenové pásy se zdály být z hlediska funkčnosti samotné metody zcela nezasazeny vlivy počasí. Množství odchycených jedinců sice v průběhu nejchladnějšího období také pokleslo, lze však předpokládat, že se jednalo o důsledek nízké aktivity živočichů, nikoliv o problém funkčnosti pastí. Pouze jeden z kmenových pásů byl nalezen roztroušen ve vzdálenosti až několika metrů od stromu. Jako možné příčiny se jeví působení některého z návštěvníků nebo ptáka, hledajícího pod kartonem potravu v podobě ukrytých bezobratlých.

Mezi jednotlivými stanovišti byly patrné rozdíly v diverzitě odchycených jedinců. Celkově nejvyšší diverzita byla zaznamenána na stanovišti č. 5 (Cesmína u jezírka). Vysoká

diverzita může být dána velkou aktivitou kolem keře, pod níž se také nacházelo množství opadanky a plodů, ale také exkrementů ptáků sídlících v cesmíně. Neopadavá koruna by mohla poskytovat příhodné mikroklima, exkrementy a plody zase potravu. Zcela neúspěšné kartonové destičky na stanovišti č. 2 (Nad expozicí vodních rostlin) lze alespoň částečně vysvětlit vrstvou opadanky dubu nacházejícího se nad stanovištěm. Destička byla brzy zaváta vysokou vrstvou listí, ztratila tak zřejmě svou výjimečnost jakožto útočiště poskytující ochranu.

V rámci testovaných metod nebylo zařazeno přímé vyhledávání a individuální sběr živočichů vyskytujících se na sněhové pokrývce, ačkoliv se jedná o tradiční a nenahraditelnou metodu výzkumu zimní fauny. V podmínkách České republiky, a navíc ve městě, se jedná o metodu, jejíž použití je omezeno relativně krátkým obdobím, kdy je utvořena stabilní sněhová pokrývka. Jako vhodné se jeví zařazení metody individuálního sběru v rámci exkurzí mimo městské oblasti. Vzhledem k relativně omezenému množství skupin fauny, které lze na sněhu nalézt (viz kap. 6.2 Systematický přehled sněžné fauny), by mohlo být jednoduché vytvoření návodu k exkurzi.

11 Návrh exkurze a praktického cvičení

Na základě získaných zkušeností a zpracovaných informací byl vytvořen stručný návrh exkurze zaměřené na faunu se supranivální aktivitou a návrh praktického cvičení založeného na použití vybraných odchytových metod. Exkurzi i praktické cvičení je vhodné nejprve uvést brainstormingem či jinou motivační aktivitou na téma, jak bezobratlí živočichové přežívají zimu.

11.1 Exkurze za sněžnou faunou

Má-li učitel možnost navštívit s žáky místo, kde se po delší dobu nachází sněhová pokrývka, může návštěvu zasvětit hledání sněžné fauny. Za takové místo lze považovat například oblasti našich hor, kam se také řada škol vydává na lyžařské kurzy. V minulých letech byla sněžná fauna pozorována například ve Svatém Petru v Krkonoších, v podhůří Králického Sněžníku (Říhová 2017, ústní sdělení) nebo v přírodní rezervaci Na Babě v NPR Křivoklátsko (BioLib 2015). I přes vhodné místo se však může jednat o hledání značně nejisté, nicméně jsou-li vybrány správné podmínky, lze šance nálezu značně zvýšit.

Optimální atmosferické podmínky

Většina sněžné fauny se na sněhu pohybuje při teplotách mírně nad 0 °C, např. pavoučnice (rod *Chionea*) jsou ovšem nejaktivnější, pokud jsou teploty mírně záporné. Je-li příliš zima, živočichové se schovávají pod sněhovou pokrývkou. Někteří mohou využívat sluneční záření jako zdroj tepla, jasná obloha však může předznamenávat výrazný pokles teplot, který by byl pro živočichy smrtelný. Proto lze někdy pozorovat aktivitu, když je počasí naopak pod mrakem. Mírné sněžení nebo čerstvě napadaný sníh nemusí být překážkou. Např. u pavouků byla aktivita zaznamenána i během sněžení a po setmění. Pozitivním faktorem může být také výška sněhové pokrývky – dostatečně vysoká vrstva sněhu pod sebou vytváří stabilní prostředí, kam se mohou živočichové při ochlazení ukrýt.

Optimální pro hledání sněžné fauny jsou tedy teploty kolem 0 °C a zamračené počasí, které je spojené se stabilními teplotami a vysokou vlhkostí. Překážkou naopak může být vítr, který způsobuje prochladnutí a vysoušení živočichů.

Pomůcky a vybavení

V rámci jednorázové exkurze je lov sněžné fauny omezen pouze na individuální sběr. Vzhledem ke skákání některých zástupců může být individuální sběr obtížný. Přesto je vhodné mít s sebou entomologickou pinzetu, epruvety s vatovou zátkou, štěteček pro smetení jedinců do epruvet a botanickou lupu. Mají-li být živočichové uchováni nebo dále zpracováni, je vhodné je vložit do nádoby s lihem. K určování lze použít klíč Buchar et al. (1995), případně vytvořit jednoduchý přehled typických zástupců (viz níže).

Co lze na sněhu nalézt?

Na sněhové pokrývce lze potkat členovce přizpůsobené ke sněžné aktivitě. Mohou být zastiženi při migraci, příjmu potravy, ale i kopulaci. Mezi nejběžnější zástupce sněžné fauny patří chvostoskoci (Collembola), kteří jsou sice malí, ale z ekologického hlediska významní, neboť slouží jako potrava jiným, větším živočichům. Zajímavý je jejich způsob lokomoce – skákání, a také utváření větších shluků a migrace. Dále lze potkat sněžnice (rod *Boreus*), které jsou zimní aktivitě přizpůsobeny redukcí křídel a taktéž skákáním. Křídla chybí také pavoučnicím (rod *Chionea*) z řádu dvoukřídlých, ty ovšem skákat neumějí a pohybují se chůzí připomínající chůzi pavouků. Na sněhu mohou být zastiženi i další dvoukřídlí, například tipličky (rod *Trichocera*) nebo pakomáři (Chironomidae). Brouci bývají aktivní především pod sněhem, ale i na sněhu lze potkat na příklad larvy páteříčkovitých (Cantharidae). Poblíž vodních toků se mohou vyskytnout pošvatky (Plecoptera), které se ve vodě líhnou a poté putují po sněhu směrem od vody. Významnou skupinou jsou také draví pavouci (Araneae), využívající menší členovce jako zdroj potravy, přičemž někteří si staví sítě přímo na sněhu.

Na sněhu můžeme potkat také řadu dalších členovců, kteří ovšem nepatří do skupiny výhradní zimní fauny a sněžná aktivita pro ně není běžnou součástí životního cyklu. Často to jsou zástupci druhů přezimujících na stromech, probuzení vlivem mírně vyšších denních teplot a odvádí na sněhovou pokrývku větrem.

Co se lze naučit?

Členovci jsou skupinou přizpůsobenou nepřebornému množství různých prostředí. Od horkých a suchých pouští až po polární oblasti nebo vysoké hory a další velmi chladná místa. Zároveň lze pozorovat některá přizpůsobení pro pohyb na sněhu, jako je skákání, redukce křídel, výrazně tmavé zbarvení pro akumulaci tepelného záření ze slunce. Pozorování speciálních migračních a navigačních aktivit by však vyžadovalo dlouhodobější a systematictější sledování.

11.2 Praktické cvičení „Kdo v zimě nespí?“

Zimní období nemusí všichni bezobratlí živočichové přečkávat v klidovém stavu, přestože nejsou specializováni k životu na sněhu. Právě ti, kteří zůstávají aktivní i během zimních měsíců nebo hledají úkryt pro přečkání nejchladnějšího období, mohou být odchyceni pomocí dvou jednoduchých pastí. První past je zaměřena na faunu vyskytující se na povrchu půdy (kartonová destička), druhá na faunu stromovou (kmenový pás).

Vzhledem k delšímu časovému rozsahu je vhodné praktické cvičení koncipovat jako projekt či badatelsky orientovanou výuku přírodopisu nebo jej využít v rámci přírodovědného semináře či kroužku. Výstupem pak může být poster, nástěnka nebo sestavení článku do školního časopisu.

Popis pastí a vybavení

Pro praktické cvičení byly na základě vlastního výzkumu (viz kap. 9 Výsledky a kap. 10 Diskuze) vybrány dvě pasti typu umělého útočiště, které živočichy lákají jako ochrana před nepříznivými vnějšími podmínkami a nejsou pro ně smrtící. Záleží tedy na vedoucím praktického cvičení, jak bude s živočichy dále naloženo. Pokud bude manipulace s živočichy prováděna s opatrností, mohou všichni jedinci průběh cvičení přežít.

První pastí je kartonová destička. Konstrukce pasti sestává z destičky kartonu o rozměrech přibližně 25×25 cm, kterou je možné vystříhnout z běžné krabice. Destička je umístěna přímo na půdu a zatížena kameny, aby byla v kontaktu se substrátem a nemohl ji odváť vítr. Druhým typem pasti je kmenový pás (též kmenových eklektor). Na jeho konstrukci

potřebujeme pás vlnkovaného kartonu, používaného jako obalový materiál, o šířce přibližně 20 cm. Ten omotáme kolem kmene stromu ve výšce přibližně 150 cm, tak aby se konce pásu překrývaly. Vlnkovaný karton lze zakoupit ve specializovaných obchodech s obalovým materiálem nebo v obchodech pro kutily. Nabízeny jsou role o různých šířkách, často však o délce v řádu desítek metrů, což může vystačit na i několik praktických cvičení (strom o průměru kmene 50 cm má obvod přibližně 157 cm, role o šířce 60 cm a délce 10 m vystačí na 19 takových kmenových pásů!). Pás připevníme pomocí provázku, který kolem něj několikrát ovineme a zavážeme snadno rozvazatelným uzlem.

Pro následný výběr pastí a zpracování vzorků bude dále potřeba entomologická pinzeta nebo exhaustor a nádoby s vatovou zátkou. K určování je pak vhodné využít lupu (pokud má určování probíhat na místě, je vhodné aby každý žák nebo dvojice měla k dispozici botanickou lupu). Jako optimální příručka k určování se jeví klíč Buchara et al. (1995), s jehož použitím je však nutné žáky nejprve seznámit.

Vhodné období a délka projektu

Umístění pastí by mělo být dlouhodobější, aby pokrylo delší období s případnými výkyvy teplot a bylo tak možné sledovat reakci fauny na krátkodobé změny. Např. v průběhu měsíce prosince nebo ledna může být snadné takové změny podchytit. Během teplejších období na začátku zimy se mohou živočichové navíc stahovat do pastí a vyhledávat zde úkryt pro přezimování.

Umístění pastí

Pasti je vhodné umístit na místo, kam není volný přístup, např. na školní pozemek. Není-li takové místo k dispozici, lze pasti dát do blízkého lesa nebo lesoparku. Ve veřejných městských parcích však hrozí nebezpečí poškození pastí kolemjdoucími. V každém případě je nezbytné umístit na každou past popisek s informací, že se jedná o součást školního projektu, kdo a za jakým účelem ho provádí a jak dlouhé bude jeho trvání.

Pasti je vhodné umístit na více rozdílných mikrohabitatů, např. na několik stromů různých druhů s různě strukturovanou borkou. Zvyšuje se tak šance na odchycení většího množství

živočichů a zároveň lze porovnat, jaký vliv na početnost (a aktivitu) bezobratlých různých mikrohabitaty mají.

Výběr pastí a další zpracování

Pasti by měly být kontrolovány, popřípadě vybírány jednou týdně. Kmenový pás sejmeme ze stromu a pomocí pinzety nebo exhaustoru sbíráme živočichy nacházející se na jeho vnitřní straně. Sbírané živočichy je vhodné umístit do uzavíratelných nádobek. Pokud je ke sběru používán exhaustor je nezbytné při výběru více pastí jedince přesunout do označených nádobek, aby se nepomíchali či nedošlo k záměně mikrohabitu. U kartonových destiček je postup ve své podstatě totožný, lze ale předpokládat, že se bude více živočichů nacházet také v půdě pod destičkou, kterou je potřeba pečlivě prohlédnout. Zejména v případě kmenových pásů je třeba při výběru postupovat rychle, neboť při vyšších teplotách mohou být odchycení jedinci značně rychlí a po vyrušení prchat.

Určování živočichů by mělo odpovídat věku a úrovni znalostí žáků. Od jednoduchého třídění podle morfotypů, až po určování do řádů a případně nižších taxonů.

Co lze chytit?

Pod kmenovými pásy lze nejčastěji nalézt pavouky (Araneae), chvostoskoky (Collembola), v menší míře pak roztoče (Acari) a během teplejších období také brouky (Coleoptera) a polokřídle (Hemiptera) (viz kap. 9.2 Taxonomická diverzita u jednotlivých odchyťových metod, Tabulka 1).

Kartonové destičky slouží nejčastěji jako úkryt pro stejnonožce (Isopoda), mnohonožky (Diplopoda), ploštice (Heteroptera) a roztoče (Acari). V menší míře pak také pro plicnaté plže (Pulmonata), pavouky (Araneae) a chvostoskoky (Collembola) (viz kap. 9.2 Taxonomická diverzita u jednotlivých odchyťových metod, Tabulka 1).

K určování živočichů je vhodné použití klíče Buchar et al. (1995).

Co se lze naučit?

I během zimy lze nalézt řadu bezobratlých živočichů, kteří mohou za vhodných podmínek zůstat aktivní, popřípadě vyhledávají úkryt pro přečkání nejchladnějších období. Jaký může mít vliv jiné struktury borky stromu na to, zda se na něm budou živočichové vyskytovat. Chycené jedince lze použít také k popisu morfologie daných skupin.

V rámci vyhodnocení cvičení je možné tedy sledovat několik jevů:

- 1) Jaký má vliv počasí na aktivitu živočichů?
- 2) Které živočichy můžeme v zimě odchytit?
- 3) Liší se zastoupení skupin živočichů na zemi a na stromech?
- 4) Jaký má vliv mikrohabitat (např. druh stromu, typ jeho borky, umístění kartonové destičky) na výskyt živočichů?

Získané poznatky je pak možné prezentovat různými metodami. Na příklad pomocí vytvoření posterů nebo nástěnek, sloužících k předání informací také dalším žákům. Vychází-li ve škole školní časopis, je možné také vytvořit články shrnující získané informace.

12 Závěr

Hlavními cíli této diplomové práce bylo vytvoření literárního přehledu adaptací chladové odolnosti bezobratlých živočichů, sestavení systematického přehledu živočichů aktivních ve sněžném prostředí a představení základních odchytových metod bezobratlých živočichů. Na základě literárního přehledu pak byla postavena praktická část, věnující se ověření vybraných odchytových metod během zimy, vytvoření přehledu odchycených živočichů a návrhům exkurze a praktického cvičení.

Bezobratlí živočichové přežívají zimu za pomoci adaptací tvořících takzvanou chladovou odolnost. Na míře chladové odolnosti se podílí několik fyziologických mechanismů, mezi které patří akumulace kryoprotektantů, protimrazových proteinů nebo nukleátorů. Strategie přežití lze pak nejjednodušeji rozdělit na základě tolerance k tvorbě ledu uvnitř těla na vyhýbání se zmrznutí pomocí podchlazení a toleranci zmrznutí. Některé organismy zůstávají v průběhu zimy aktivní a využívají období k migraci i rozmnožování. Sněhová pokrývka tvoří tři rozdílná mikroprostředí. Nejvíce živočichů se pohybuje v subniviu, tedy pod sněhem, odkud někteří mohou migrovat do vyšších vrstev nebo až na povrch. Mezi skupiny živočichů aktivních ve sněžném prostředí patří pavoukovci, roztoči a řada zástupců hmyzu. Některí mohou být specializováni výhradně na život v chladu.

V rámci praktické části práce byly získány poznatky, které mohou být uplatněny při plánování praktické výuky zoologie bezobratlých ve škole během zimního období. Vybrané metody vyzkoušené v praxi jsou do jisté míry použitelné i v zimě, nicméně faktory vnějšího prostředí na ně mají značný vliv a někdy mohou zásadně snížit samotnou funkčnost metody. Výsledky jednotlivých metod se nemusí lišit jen v taxonomické diverzitě, ale také ve velikosti odchycených jedinců, což může mít vliv na výběr dané metody, má-li být využita pro sběr vzorků k didaktickým účelům.

Celkem bylo pomocí vybraných metod získáno 18 řádů bezobratlých živočichů. Ve vzorcích však nebyli nalezeni žádní zástupci typické sněžné fauny. Dominantní odlovené skupiny pak byly podrobněji popsány s důrazem na morfologii v přehledu odchycených

živočichů. Tato část pak může sloužit jako základní příručka pro učitele či žáky k orientaci v odlovené fauně.

V závěru práce byly připojeny návrhy na exkurzi a praktická cvičení. Exkurze je zaměřena na pozorování sněžné fauny, které se věnovala závěrečná část rešerše. Praktická cvičení pak na odchyt živočichů, kteří mohou být v zimním období aktivní nebo vyhledávat pod připravenými pastmi útočiště.

13 Seznam použitých pojmů

Aklimatizace – fyziologická změna určitého faktoru vyvolaná přírodními vlivy; = např. přivykání na nižší teploty vyvolané přicházející zimou

Aklimace – fyziologická změna určitého faktoru navozená v laboratorních podmínkách; = např. přivykání na nízké teploty vyvolané umělým snižováním teploty

Desikace – stav nebo proces extrémního vysušení

Dormance – dočasné snížení metabolismu, např. pro přečkání nepříznivého období

Chilling – chlad bez krystalizace tekutin; teploty často vyšší než 0 °C, ve kterých ovšem nemůže probíhat normální vývoj daného živočicha

Koligativní – vlastnost látky v roztoku nezávisající na látce samotné (např. na náboji, velikosti částic), ale pouze na její koncentraci, tedy počtu částic

Morfotyp – skupina živočichů různých taxonů s podobnou stavbou těla

Osmol (Osm) – jednotka koncentrace osmoticky aktivních látek v jednotce hmotnosti rozpouštědla (osmolality)

Podchlazení (*supercooling*) – ochlazení kapaliny na teplotu pod bodem tuhnutí, aniž by došlo k její krystalizaci

Subnivium (subnivální mikroprostředí) – prostor na rozhraní půdy a sněhové pokrývky

14 Seznam použitých informačních zdrojů

- AITCHISON, C. W., 1984. Low temperature feeding by winter-active spiders. *Journal of Arachnology*. **12**(3), 297–305.
- AITCHISON, C. W., 2001. The Effect of Snow Cover on Small Animals. In: *Snow Ecology: An Interdisciplinary Examination of Snow-Covered Ecosystems*. Cambridge: Cambridge University Press, s. 229–265.
- BALE, J. S., 1996. Insect cold hardiness: a matter of life and death. *European Journal of Entomology*. **93**(3), 369–382.
- BENNETT, V.A., T. SFORMO, K. WALTERS, O. TOIEN, K. JEANNET, R. HOCHSTRASSER, Q PAN, A. SERIANNI a B. M. BARNES, 2005. Comparative overwintering physiology of Alaska and Indiana populations of the beetle *Cucujus clavipes* (Fabricius): roles of antifreeze proteins, polyols, dehydration and diapause. *Journal of Experimental Biology*. **208**(23), 4467–4477.
- BESUCHET, C., D. H. BURCKHARDT a I. LÖBL, 1987. The „Winkler/Moczarski” Eclector as an Efficient Extractor for Fungus and Litter Coleoptera. *The Coleopterists Bulletin*. **41**(4), 392–394.
- BLOCK, W. a J. ZETTEL, 2003. Activity and dormancy in relation to body water and cold tolerance in a winter-active springtail (Collembola). *European Journal of Entomology*. **100**(3), 305–312.
- BUCHAR, Jan, V. DUCHÁČ, K. HŮRKA a J. LELLÁK, 1995. *Klíč k určování bezobratlých*. Praha: Scientia. ISBN 80-85827-81-6.
- BURROWS, M., 2011. Jumping mechanisms and performance of snow fleas (Mecoptera, Boreidae). *Journal of Experimental Biology*. **214**(14), 2362–2374.
- CAMPBELL, J. W. a J. L. HANULA, 2007. Efficiency of Malaise traps and colored pan traps for collecting flower visiting insects from three forested ecosystems. *Journal of insect conservation*. **11**(4), 399–408.
- CLARK, M. S. a M. R. WORLAND, 2008. How insects survive the cold: molecular mechanisms—a review. *Journal of Comparative Physiology B*. **178**(8), 917–933.
- COSTANZO, J. P., 2012. Extreme Cold Hardiness in Ectotherms. *Nature Education Knowledge*. **3**(10), 3.
- DALY, H. V., 1998. *Introduction to insect biology and diversity*. Vyd. 2. Oxford: Oxford University Press. ISBN 0-19-510033-6.
- DANKS, H. V., 1996. The wider integration of studies on insect cold-hardiness. *European Journal of Entomology*. **93**(3), 383–404.
- DANKS, H. V., 2004. Seasonal adaptations in arctic insects. *Integrative and Comparative Biology*. **44**(2), 85–94.

- DENLINGER, D. L., 1991. Relationship between Cold Hardiness and Diapause. In: R. E. LEE a D. L. DENLINGER, ed. *Insects at Low Temperature*. B.m.: Springer US, s. 174–198. ISBN 978-1-4757-0192-0.
- DENLINGER, D. L. a R. E. LEE, 2010. *Low Temperature Biology of Insects*. Cambridge: Cambridge University Press. ISBN 978-1-139-48547-0.
- DUFFEY, E., 1969. The seasonal movements of *Clubiona brevipes* Blackwall and *Clubiona compta* CL Koch on oak trees in Monks Wood, Huntingdonshire. *Bulletin of the British Arachnological Society*. **1**(3), 29–32.
- DUMAN, J. G., 2001. Antifreeze and ice nucleator proteins in terrestrial arthropods. *Annual Review of Physiology*. **63**(1), 327–357.
- ELNITSKY, M. A., S. A. L. HAYWARD, J. P. RINEHART, D. L. DENLINGER a R. E. LEE, 2008. Cryoprotective dehydration and the resistance to inoculative freezing in the Antarctic midge, *Belgica antarctica*. *Journal of Experimental Biology*. **211**(4), 524–530.
- GIŁKA, W., A. SOSZYŃSKA-MAJ a L. PAASIVIRTA, 2013. The peculiar winter-active midge *Diamesa starmachi* (Diptera: Chironomidae). *Polish Journal of Entomology / Polskie Pismo Entomologiczne*. **82**(3), 201–211.
- GOTO, M., Y. SEKINE, H. OUTA, M. HUJIKURA a K. SUZUKI, 2001. Relationships between cold hardiness and diapause, and between glycerol and free amino acid contents in overwintering larvae of the oriental corn borer, *Ostrinia furnacalis*. *Journal of Insect Physiology*. **47**(2), 157–165.
- HÅGVAR, S., 1976. Phenology of egg development and egg-laying in a winter-active insect, *Chionea araneoides* Dalm.(Dipt., Tipulidae). *Norwegian Journal of Entomology*. **23**(2), 193–195.
- HÅGVAR, S., 2000. Navigation and behaviour of four Collembola species migrating on the snow surface. *Pedobiologia*. **44**(3), 221–233.
- HÅGVAR, S., 2001. Occurrence and migration on snow, and phenology of egg-laying in the winter-active insect *Boreus* sp.(Mecoptera). *Norwegian Journal of Entomology*. **48**, 51–60.
- HÅGVAR, S., 2007. Why do some Psylloidea and Heteroptera occur regularly on snow. *Norwegian Journal of Entomology*. **54**(1), 3–9.
- HÅGVAR, S., 2010. A review of Fennoscandian arthropods living on and in snow. *European Journal of Entomology*. **107**(3), 281–298.
- HÅGVAR, S. a E. ØSTBYE, 1973. Notes on some winter-active Chironomidae. *Norsk entomologisk tidsskrift*. **1973**.
- HAWKINS, J. W., M. W. LANKESTER a R. R. A. NELSON, 1998. Sampling terrestrial gastropods using cardboard sheets. *Malacologia*. **39**(1–2), 1–9.
- HEINRICH, B., 1995. Insect thermoregulation. *Endeavour*. **19**(1), 28–33.

- HIRSH, A. G., R. J. WILLIAMS a H. T. MERYMAN, 1985. A novel method of natural cryoprotection. *Plant Physiology* **79**, 41–56.
- HODKOVÁ, M. a I. HODEK, 1997. Temperature Regulation of Supercooling and Gut Nucleation in Relation to Diapause of *Pyrrhocoris apterus*(L.) (Heteroptera). *Cryobiology*. **34**(1), 70–79.
- HODKOVÁ, M. a I. HODEK, 2004. Photoperiod, diapause and cold-hardiness. *European Journal of Entomology*. **101**(3), 445–458.
- HOLMSTRUP, M., 2003. Overwintering adaptations in earthworms. *Pedobiologia*. **47**(5), 504–510.
- HOLMSTRUP, M., J. P. COSTANZO a R. E. LEE, 1999. Cryoprotective and osmotic responses to cold acclimation and freezing in freeze-tolerant and freeze-intolerant earthworms. *Journal of Comparative Physiology B*. **169**(3), 207–214.
- HORSÁK, M., L. JUŘIČKOVÁ, J. PICKA, D. BOUKAL a V. KABOUREK, 2013. *Měkkýši České a Slovenské republiky: Molluscs of the Czech and Slovak Republics*. Zlín: Kabourek. ISBN 978-80-86447-15-5.
- HUDEC, K., D. BÁRTA a M. HORSÁK, ed., 2007. *Příroda České republiky: průvodce faunou*. Praha: Academia. ISBN 978-80-200-1569-3.
- HUSBY, J. A. a K. E. ZACHARIASSEN, 1980. Antifreeze agents in the body fluid of winter active insects and spiders. *Experientia* **36**, 963–964.
- HEYDEMANN, B, 1956. Untersuchungen über die Winteraktivität von Staphyliniden auf Feldern. *Entomol. Blätter*, **52**: 138-150.
- CHOWN, S. L., B. J. SINCLAIR, H. P. LEINAAS a Kevin J GASTON, 2004. Hemispheric Asymmetries in Biodiversity—A Serious Matter for Ecology. *PLoS Biol.* **2**(11), 1701–1706.
- ISAIA, M., F. BONA a G. BADINO, 2006. Comparison of Polyethylene Bubble Wrap and Corrugated Cardboard Traps for Sampling Tree-Inhabiting Spiders. *Environmental Entomology*. **35**(6), 1654–1660.
- JASKULA, R. a A. SOSZYŃSKA-MAJ, 2011. What do we know about winter active ground beetles (Coleoptera, Carabidae) in Central and Northern Europe? *ZooKeys*. (100), 517–532.
- JEDLIČKA, L., M. KÚDELA a V. STLOUKALOVÁ, 2009. *Checklist of Diptera of the Czech Republic and Slovakia. Electronic version 2* [online]. ISBN 978-80-969629-4-5. Dostupné z: <http://zoology.fns.uniba.sk/diptera2009>
- JONSSON, B. a T. SANDLUND, 1975. Notes on winter activity of two *Diamesa* species (Diptera, Chironomidae) from Voss, Norway. *Norwegian Journal of Entomology*. **1975**(22), 1–6.

- JULIO, C. A., 2010. *Methods for catching beetles*. Montevideo: Naturalia Scientific Collection. ISBN 978-9974-98-133-1.
- K OSHIMA S. 1985. Migration of the Himalayan wingless glacier midge (*Diamesa* sp.): slope direction assessment by sun-compassed straight walk. *Journal of Ethology* **3**: 93-104.
- KOŠTÁL, V., J. VAMBERA a J. BASTL, 2004. On the nature of pre-freeze mortality in insects: water balance, ion homeostasis and energy charge in the adults of *Pyrrhocoris apterus*. *Journal of Experimental Biology*. **207**(9), 1509–1521.
- KOŠTÁL, V., H. ZAHRADNÍČKOVÁ a P. ŠIMEK, 2011. Hyperprolinemic larvae of the drosophilid fly, *Chymomyza costata*, survive cryopreservation in liquid nitrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **108**(32), 13041–13046.
- LEE, R. E., 1989. Insect cold-hardiness: To freeze or not to freeze. *Bioscience*. **39**(5), 308–313.
- LEE, R. E. a D. L. DENLINGER, 1991. *Insects at low temperature*. B.m.: Chapman and Hall. ISBN 978-0-412-02801-4.
- LEINAAS, H. P. a A. FJELLBERG, 1985. Habitat structure and life history strategies of two partly sympatric and closely related, lichen feeding collembolan species. *Oikos* **44**(3), 448–458.
- MACHAČ, O. a I. H. TUF, 2016. Spiders and harvestmen on tree trunks obtained by three sampling methods. *ResearchGate*. **51**, 67–72.
- MARGESIN, R., G. NEUNER a K. B. STOREY, 2006. Cold-loving microbes, plants, and animals—fundamental and applied aspects. *Naturwissenschaften*. **94**(2), 77–99.
- MARCHAND, P. J., 1996. *Life in the cold*. Vyd. 3. Hanover: University Press of New England. ISBN 978-0-87451-785-9.
- MERRIAM, G., J. WEGNER a D. CALDWELL, 1983. Invertebrate activity under snow in deciduous woods. *Holarctic Ecology*. **6**(1), 89–94.
- MIKO, L., R. REJŠEK a L. CHVÁTALOVÁ, 1993. *Úvod do půdní biologie: Přípravný text pro kategorie A, B*. Praha: Institut dětí a mládeže Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky. Biologická olympiáda, 1993–1994. ISBN 978-80-85105-67-4.
- MILLER, K., 1982. Cold-hardiness strategies of some adult and immature insects overwintering in interior Alaska. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*. **73**(4), 595–604.
- MOUREK, J. a E. LIŠKOVÁ, 2010. *Biologické sbírky - metody sběru, preparace a uchovávání : příručka k projektu Alma Mater Studiorum*. Praha: UK v Praze, Pedagogická fakulta. ISBN 978-80-7290-450-1.
- NIEDOBOVÁ, J. a P. ŘEZNÍČKOVÁ, 2014. *Odchytové a odběrové metody bezobratlých*. Brno: Mendelova univerzita v Brně. ISBN 978-80-7375-983-4.

- NOVÁK, K., 1969. *Metody sběru a preparace hmyzu*. Praha: Academia.
- NUORTEVA, M. 1951. Observations on some winter-insects. *Ann. Entomol. Fenn.* **17**: 117
- OLIVER, D. R., 1968. Adaptations of Arctic Chironomidae. *Annales Zoologici Fennici*. **5**(1), 111–118.
- OLSEN, T., S. SASS, NING, L. a J. DUMAN, 1998. Factors contributing to seasonal increases in inoculative freezing resistance in overwintering fire-colored beetle larvae *Dendroides canadensis*. *Journal of Experimental Biology*. **201**(10), 1585–1594.
- OVERGAARD, J. a H. A. MACMILLAN, 2016. The Integrative Physiology of Insect Chill Tolerance. *Annual Review of Physiology*. **79**, 187–207.
- PAULI, J. N., B. ZUCKERBERG, J. P. WHITEMAN a W. PORTER, 2013. The subnivium: a deteriorating seasonal refugium. *Frontiers in Ecology and the Environment*. **11**(5), 260–267.
- PETTY, S. K., B. ZUCKERBERG a J. N. PAULI, 2015. Winter Conditions and Land Cover Structure the Subnivium, A Seasonal Refuge beneath the Snow. *PLOS ONE*. **10**(5), 1–12.
- POKLADNÍKOVÁ, H., J. ROŽNOVSKÝ a J. DUFKOVÁ, 2005. Promrzání půdy na stanici Bystřice nad Pernštejnem. In: *Bioklimatologie současnosti a budoucnosti: sborník referátů z mezinárodní vědecké konference*. B.m.: Česká bioklimatologická společnost. ISBN 80-86 690–31-08.
- POKORNÝ, V. a F. ŠIFNER, 2004. *Atlas hmyzu*. Praha ; Litomyšl: Paseka. ISBN 978-80-7185-658-0.
- PULLIN, A. S., 1996. Physiological relationships between insect diapause and cold tolerance: coevolution or coincidence. *European Journal of Entomology*. **93**, 121–130.
- RUSSO, L., R. STEHOUWER, J. M. HEBERLING a K. SHEA, 2011. The Composite Insect Trap: An Innovative Combination Trap for Biologically Diverse Sampling: e21079. *PLoS One*. **6**(6), e21079.
- SALT, R. W., 1961. Principles of insect cold-hardiness. *Annual Review of Entomology*. **6**(1), 55–74.
- SFORMO, T., K. WALTERS, K. JEANNET, B. WOWK, G. M. FAHY, B. M. BARNES a J. G. DUMAN, 2010. Deep supercooling, vitrification and limited survival to –100°C in the Alaskan beetle *Cucujus clavipes puniceus* (Coleoptera: Cucujidae) larvae. *Journal of Experimental Biology*. **213**(3), 502–509.
- SCHAUFF, M.E., 2001. *Collecting and preserving insects and mites: techniques & tools*. B.m.: Systematic Entomology Laboratory, USDA.
- SINCLAIR, B. J., 1999. Insect cold tolerance: How many kinds of frozen? *European Journal of Entomology*. **96**, 157–164.

- SINCLAIR, B. J., A. ADDO-BEDIAKO a S. L. CHOWN, 2003. Climatic variability and the evolution of insect freeze tolerance. *Biological Reviews*. **78**(2), 181–195.
- SINCLAIR, B. J. a S. L. CHOWN, 2005. Climatic variability and hemispheric differences in insect cold tolerance: support from southern Africa. *Functional Ecology* [online]. **19**(2), 214–221. ISSN 1365-2435. Dostupné z: doi:10.1111/j.1365-2435.2005.00962.x
- SMITH, T., D. A. WHARTON a C. J. MARSHALL, 2008. Cold tolerance of an Antarctic nematode that survives intracellular freezing: comparisons with other nematode species. *Journal of Comparative Physiology B*. **178**(1), 93–100.
- SØMME, L., 1976. Cold hardiness of winter active Collembola. *Norwegian Journal of Entomology*. **23**(2), 149–153.
- SØMME, L., 1999. The physiology of cold hardiness in terrestrial arthropods. *European Journal of Entomology*. **96**(1), 1–10.
- SØMME, L. a E. ØSTBYE, 1969. Cold-hardiness in some winter active insects. *Norsk entomologisk tidsskrift*. **16**, 45–48.
- SØRENSEN, J. G. a M. HOLMSTRUP, 2011. Cryoprotective dehydration is widespread in Arctic springtails. *Journal of Insect Physiology*. **57**(8), 1147–1153.
- SOSZYŃSKA, A., 2004. The influence of environmental factors on the supranivean activity of flies (Diptera) in Central Poland. *Eur. J. entomol.* **101**, 481–489.
- SOSZYŃSKA-MAJ, A., L. PAASIVIRTA a W. GIŁKA, 2016. Why on the snow? Winter emergence strategies of snow-active Chironomidae (Diptera) in Poland. *Insect Science*. **23**(5), 754–770.
- SOSZYŃSKA-MAJ, A. a A. J. WOŹNICA, 2016. A case study of Heleomyzidae (Diptera) recorded on snow in Poland with a review of their winter activity in Europe. *European Journal of Entomology*. **113**(1), 279–294.
- STEINER, A. a C. HAUSER, 2010. Recording insects by light-traps. In: *Manual on field recording techniques and protocols for all taxa biodiversity inventories and monitoring*. B.m.: ABC Taxa, s. 400–422.
- STOREY, K. B. a J. M. STOREY, 1996. Natural freezing survival in animals. *Annual Review of Ecology and Systematics*. **27**, 365–386.
- STOREY, K. B. a J. M. STOREY, 2014. Insects in Winter: Metabolism and Regulation of Cold Hardiness. In: *Insect Molecular Biology and Ecology*. B.m.: CRC Press, s. 245–270. ISBN 978-1-4822-3188-5.
- STRÜBING, H., 1964. *Schneeinsekten*. A. Ziemsen Verlag, Wittenberg Luthersadt.
- TEETS, N. M. a D. L. DENLINGER, 2013. Physiological mechanisms of seasonal and rapid cold-hardening in insects. *Physiological entomology*. **38**(2), 105–116.

- VANIN, S., L. BUBACCO a M. BELTRAMINI, 2008. Seasonal variation of trehalose and glycerol concentrations in winter snow-active insects. *CryoLetters*. **29**(6), 485–491.
- VANIN, S. a L. MASUTTI, 2008. Studies on the distribution and ecology of snow flies *Chionea lutescens* and *Chionea alpina* (Diptera, Limoniidae) in Italy. *Italian Journal of Zoology*. **75**(2), 147–153. ISSN 1125-0003.
- VOITURON, Y., N. MOUQUET, C. DE MAZANCOURT a J. CLOBERT, 2002. To Freeze or Not to Freeze? An Evolutionary Perspective on the Cold-Hardiness Strategies of Overwintering Ectotherms. *The American Naturalist*. **160**(2), 255–270.
- VOLONTERIO, O., R. P. DE LEÓN, P. CONVEY a E. KRZEMIŃSKA, 2013. First record of Trichoceridae (Diptera) in the maritime Antarctic. *Polar Biology*. **36**, 1–7.
- WALTERS, K. R., A. S. SERIANNI, Y. VOITURON, T. SFORMO, B. M. BARNES a J. G. DUMAN, 2011. A thermal hysteresis-producing xylomannan glycolipid antifreeze associated with cold tolerance is found in diverse taxa. *Journal of Comparative Physiology B*. **181**(5), 631–640.
- WHARTON, D. A., G. GOODALL a C. J. MARSHALL, 2003. Freezing survival and cryoprotective dehydration as cold tolerance mechanisms in the Antarctic nematode *Panagrolaimus davidi*. *Journal of Experimental Biology*. **206**(2), 215–221.
- WINKLER, Josef R., 1974. *Sbíráme hmyz : a zakládáme entomologickou sbírku*. Praha: Státní zemědělské nakladatelství.
- ZACHARIASSEN, K. E. a E. KRISTIANSEN, 2000. Ice nucleation and antinucleation in nature. *Cryobiology*. **41**(4), 257–279.
- ZETTEL, J., U. ZETTEL, C. SUTER, S. STREICH a B. EGGER, 2002. Winter feeding behaviour of *Ceratophysella sigillata* (Collembola: Hypogastruridae) and the significance of eversible vesicles for resource utilisation. *Pedobiologia*. **46**(3–4), 404–413.
- ZICHA O., BioLib. <http://www.biolib.cz> [vid 17.4.2017].